

I hereby certify that this correspondence is being hand delivered to:  
Examiner Peter Nerbun, Art Unit 3765, U.S. Patent and Trademark Office,  
Washington, DC 20231, on the date shown below.  
Dated: June 13, 2003  
Signature: (Amy E. Mandragouras)

Docket No.: FRN-002RCE  
(PATENT)

#18

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Application of:

Constantinos Balas

Application No.: 09/739,089

Group Art Unit: 3765

Filed: December 15, 2000  
February 11, 2003 (RCE)

Examiner: Peter Nerbun

For: METHOD AND SYSTEM FOR  
CHARACTERIZATION AND MAPPING OF  
TISSUE LESIONS

RECEIVED  
JUN 13 2003  
TECHNOLOGY CENTER 3700

**TRANSMITTAL LETTER**

U.S. Patent and Trademark Office  
Washington, DC 20231  
Attn: Examiner Peter Nerbun  
Art Unit 3765

RECEIVED  
JUN 16 2003  
TECHNOLOGY CENTER R3700

Dear Sir:

Enclosed are the following items for filing in connection with the above-referenced Patent Application:

1. copy of a Greek national application certified by the Patent Office in Greece;
2. an English translation of the Greek national application;
3. a postcard receipt

The Director is hereby authorized to charge any deficiency in the fees filed, asserted to be filed or which should have been filed herewith (or with any paper hereafter filed in this

Application No.: 09/739,089

Art Unit: 3765

application by this firm) to our Deposit Account No. 12-0080. A duplicate copy of this paper is enclosed.

Dated: June 13, 2003

Respectfully submitted,

By 

Amy E. Mandragouras

Registration No.: 36,207

LAHIVE & COCKFIELD, LLP

28 State Street

Boston, Massachusetts 02109

(617) 227-7400

Attorney/Agent For Applicant

**ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ (Ο.Β.Ι.)**

Παντανάσσης 5, Παράδεισος Αμαρουσίου, 151 25 ΑΘΗΝΑ (τηλ.6183500-520) (www.obl.gr)

**ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ**

Πληροφορίες : Λεοντή Παρασκευή

Τηλέφωνο : 210.61.83.515

Αρ. Πρωτ. : 2675/28-05-03

Μαρούσι, 28/05/03

Προς : κ. Μπάλα Κων/νο

**ΕΠΙΚΥΡΩΜΕΝΑ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ**

Όπως φαίνεται από τα μητρώα μας, τα συνημμένα αποτελούν ακριβές αντίγραφο του Διπλώματος Ευρεσιτεχνίας με αριθμό **1004180**.

Με εντολή Γενικού Διευθυντή



Λεοντή Παρασκευή

**Συνημμένα :**

- |                |      |    |
|----------------|------|----|
| 1. Τίτλος      | σελ. | 1  |
| 2. Περιγραφή   | σελ. | 17 |
| 3. Αξιώσεις    | σελ. | 9  |
| 4. Περίληψη    | σελ. | 1  |
| 5. Σχέδ        | σελ. | 7  |
| 6. Εκθ. Π. νας | σελ. | 3  |
| 7. Φύλλο π. ής |      |    |
| έρευν.         | σελ. | 1  |
| 8. Βιβλιο φιλ  | σελ. | 2  |



# ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ

## ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΥΡΕΣΙΤΕΧΝΙΑΣ

Αριθμ. **1004180**

Εχοντας υπόψη :

α) το άρθρο 8 παρ. 11 του νόμου 1733/87 "Μεταφορά τεχνολογίας, εφευρέσεις, τεχνολογική καινοτομία και σύσταση Επιτροπής Ατομικής Ενέργειας"

β) την υπ' αρ. 15928/ΕΦΑ/1253 απόφαση του Υπουργού Βιομηχανίας, Ενέργειας και Τεχνολογίας "Κατάθεση αίτησης για χορήγηση Διπλώματος Ευρεσιτεχνίας ή Πιστοποιητικού Υποδείγματος Χρησιμότητας στον ΟΒΙ και τήρηση βιβλίων"

γ) την αίτηση που κατέθεσε ο ενδιαφερόμενος στον Ο.Β.Ι. στις **28-3-2000** με αριθμό **20000100102**.

Απονέμουμε

Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας με θεωρημένα όλα τα κατά νόμον επισυναπτόμενα σχετικά έγγραφα, στους :

**1) ΙΔΡΥΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑΣ (ΙΗΔΛ)**

Δαιδάλου 36

71110 ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

**2) ΜΠΑΛΑ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟ**

Ζαχαριουδάκη 12

71305 ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΙΤΛΟΣ : " ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ "

ΕΦΕΥΡΕΤΗΣ(ΕΣ) : ΠΕΛΕΚΟΥΔΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΔΙΕΘΝΗΣ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ (INT.CL<sup>7</sup>) : A61B 5/00 ,A61B 1/303 .

Το Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας αυτό, ισχύει μέχρι : **29-3-2020**

Αθήνα 11/03/2003

Ο Γενικός Διευθυντής

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΣΑΜΟΥΗΛΙΔΗΣ

ΣΥΣΤΗΜΑ

ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ  
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ  
ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ (Ο.Β.Ι.)

## ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμ. αιτ. Δ.Ε. : 20000100102

Αριθμ. Δ.Ε. : 1004180

Κατηγορ.	ΣΧΕΤΙΚΑ ΕΓΓΡΑΦΑ & αναφορές σε τμήματά τους	Σχέση με αξίωση	Διεθν. Ταξινόμηση Int. Cl. 7
	Η έρευνα βασίστηκε σε έγγραφα που κατατέθηκαν μετά το 1978. Ειδικότερα έγινε σε δημοσιευμένες Ευρωπαϊκές, Διεθνείς & Αμερικάνικες αιτήσεις ΔΕ, σε περιλήψεις στην αγγλική Γαλιονέζικων αιτήσεων ΔΕ & σε Ελληνικές αιτήσεις ΔΕ με προτεραιότητα. Πάντως είναι δυνατόν να αναφερθούν στην Έκθεση Έρευνας και έγγραφα επιπλέον των αναφερομένων.		A61B 5/00 A61B 1/303
DX	XP 001011384 / 09-09-1998 COSTAS BALAS ET AL	7-14, 18-2	
Y	"In vivo assessment of acetic acid-cervical tiss ue interaction using quantitative imaging of back -scattered light: Its potential use for the in vi vo cervical cancer detection grading and mapping"	15-17,21,2 24-29	
A	PROCEEDINGS OF THE SPIE, SPIE, τόμος 3568, σελίδες 31-37 BELLINGHAM, USA * ολόκληρο το έγγραφο *		
Y	WO 99 18847 A / 22/04/1999 (ACCUMED INTERNATIONAL INC. ET AL)	7-23	
A	* σελίδα 10, γραμμή 18 - σελίδα 11, γραμμή 12 * * σελίδα 22, γραμμή 3 - σελίδα 29, γραμμή 20 *	24-29	
Y	XP 000992067 / 1999-10 GLANZMANN T ET AL ""Time - resolved spectrofluorometer for clinical tissue characterization during endoscopy REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, AMERICAN INSTIT UTE OF PHYSICS, NEW YORK, US, τόμος 70, No 10, σελίδες 4067-4077, ISSN : 0034-6748 * ολόκληρο το έγγραφο *	7-23	Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν
			A61B
Y	US 5 699 798 A / 23/12/1997 (D.HOCHMAN ET AL) * στήλη 3, γραμμή 21 - στήλη 6, γραμμή 27 *	7-23	
A	XP 002170739 / 14/01/2000 ANDERSSON-ENGELS S ET AL "Preliminary evaluation of two fluorescence imagin g methods for the detection and the delineation o f basal cell carcinomas of the skin" LASERS IN SURGERY AND MEDICINE AND MEDICINE, WILE Y-LISS, NEW YORK, US,		
Ημερομηνία ολοκλήρωσης της Έκθεσης Έρευνας : 11/06/2002			

X : Έγγραφο Πολύ Σχετικό

Y : Έγγραφο πολύ σχετικό σε συνδυασμό με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

A : Τεχνολογικό υπόβαθρο

O : Μη γραπτή αποκάλυψη

P : Ενδιάμεσο έγγραφο

& : Μέλος της ίδιας οικογένειας εφευρέσεων

T : Θεωρία ή Αρχή της βάσης της εφεύρεσης

E : Προγενέστερο έγγραφο ΔΕ που δημοσιεύθηκε με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

D : Έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση

L : Έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους

ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ  
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ  
ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑΣ (Ο.Β.Ι.)

## ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμ. αιτ. Δ.Ε. : 20000100102

Αριθμ. Δ.Ε. : 1004180

Κατηγ.	ΣΧΕΤΙΚΑ ΕΓΓΡΑΦΑ & αναφορές σε τμήματά τους	Σχέση με αξίωση	Διεθν. Ταξινόμηση Int. Cl. 7
	Η έρευνα βασίστηκε σε έγγραφα που κατατέθηκαν μετά το 1978. Ειδικότερα έγινε σε δημοσιευμένες Ευρωπαϊκές, Διεθνείς & Αμερικάνικες αιτήσεις ΔΕ, σε περιλήψεις στην αγγλική Γισπωνέζικων αιτήσεων ΔΕ & σε Ελληνικές αιτήσεις ΔΕ με προτεραιότητα. Πάντως είναι δυνατόν να αναφερθούν στην Έκθεση Έρευνας και έγγραφα επιπλέον των αναφερομένων.  τόμος 26, Νο 1, 14/01/2000 ISSN : 0196-8092 * ολόκληρο το έγγραφο *		A61B 5/00 A61B 1/303
A	US 5 647 368 A / 15/07/1997 (HAISHAN ZENG ET AL) * στήλη 5, γραμμή 26 - στήλη 7, γραμμή 21 *	7-29	
A	WO 92 19148 A / 12/11/1992 (E.L.ADAIR) * σελίδα 7, γραμμή 22 - σελίδα 11, γραμμή 17 *	7,24,25	
			Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν
			A61B
Ημερομηνία ολοκλήρωσης της Έκθεσης Έρευνας : 11/06/2002			

X : Έγγραφο Πολύ Σχετικό

Y : Έγγραφο πολύ σχετικό σε συνδυασμό με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

A : Τεχνολογικό υπόβαθρο

O : Μη γραπτή αποκάλυψη

P : Ενδιάμεσο έγγραφο

& : Μέλος της ίδια οικογένειας εφευρέσεων

T : Θεωρία ή Αρχή της βάσης της εφεύρεσης

E : Προγενέστερο έγγραφο ΔΕ που δημοσιεύθηκε με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

D : Έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση

L : Έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους

## ΕΚΘΕΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Αριθμ. αιτ. Δ.Ε. : 20000100102

Αριθμ. Δ.Ε. : 1004180

Κατηγορ.	ΣΧΕΤΙΚΑ ΕΓΓΡΑΦΑ & αναφορές σε τμήματά τους	Σχέση με αξίωση	Διεθν. Ταξινόμηση Int. Cl. 7
	<p>Η έρευνα βασίστηκε σε έγγραφα που κατατέθηκαν μετά το 1978. Ειδικότερα έγινε σε δημοσιευμένες Ευρωπαϊκές, Διεθνείς &amp; Αμερικάνικες αιτήσεις ΔΕ, σε περιλήψεις στην αγγλική Γαπωνέζικων αιτήσεων ΔΕ &amp; σε Ελληνικές αιτήσεις ΔΕ με προτεραιότητα.</p> <p>Πάντως είναι δυνατόν να αναφερθούν στην Έκθεση Έρευνας και έγγραφα επιπλέον των αναφερομένων.</p> <p>τόμος 26, No 1, 14/01/2000 ISSN : 0196-8092 * ολόκληρο το έγγραφο *</p>		<p>A61B 5/00 A61B 1/303</p>
A	<p>US 5 647 368 A / 15/07/1997 (HAISHAN ZENG ET AL) * στήλη 5, γραμμή 26 - στήλη 7, γραμμή 21 *</p>	7-29	
A	<p>WO 92 19148 A / 12/11/1992 (E.L.ADAIR) * σελίδα 7, γραμμή 22 - σελίδα 11, γραμμή 17 *</p>	7,24,25	
			<p>Τεχνικά πεδία που ερευνήθηκαν</p>
			A61B

Ημερομηνία ολοκλήρωσης της Έκθεσης Έρευνας :

11/06/2002

X : Έγγραφο Πολύ Σχετικό

Y : Έγγραφο πολύ σχετικό σε συνδυασμό με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

A : Τεχνολογικό υπόβαθρο

O : Μη γραπτή αποκάλυψη

P : Ενδιάμεσο έγγραφο

& : Μέλος της ίδια οικογένειας εφευρέσεων

T : Θεωρία ή Αρχή της βάσης της εφεύρεσης

E : Προγενέστερο έγγραφο ΔΕ που δημοσιεύθηκε με άλλο έγγραφο της ίδιας κατηγορίας κατά ή μετά την ημερομηνία κατάθεσης

D : Έγγραφο αναφερόμενο στην αίτηση

L : Έγγραφο αναφερόμενο για άλλους λόγους

ΑΤΕΛΗΣ ΕΡΕΥΝΑ  
ΦΥΛΛΟ C

Η παρούσα έκθεση έρευνας δεν διεκπεραιώθηκε λόγω ορισμένων αξιώσεων, το θέμα των οποίων δεν συμπίπτει στο αντικείμενο έρευνας του ΕΓΔΕ, συγκεκριμένα :

Οι αξιώσεις 7-18, 23-29 ερευνήθηκαν πλήρως.

Οι αξιώσεις 19-22 ερευνήθηκαν μερικώς.

Οι αξιώσεις 1-6 δεν ερευνήθηκαν.

Λόγος περιορισμού της έρευνας (εφευρέσεις μη δυνάμενες να κατοχυρωθούν με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας) :

Οι αξιώσεις 1 έως 6 και 19 έως 22 (όταν αυτές εξαρτώνται από τις αξιώσεις 1 έως 6), περιλαμβάνουν το χειρουργικό στάδιο « χορήγηση ουσίας. ... η οποία αλληλεπιδρά με περιοχές του παθολογικού ιστού ...».

Το στάδιο αυτό αποδίδει στη μέθοδο, γενικά, χειρουργικό χαρακτήρα, έτσι που οι παραπάνω αξιώσεις να εμπίπτουν στις αποκλειόμενες από την έρευνα μεθόδους χειρουργικής θεραπείας του ανθρώπινου και ζωϊκού σώματος.



## ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ

Η παρούσα εφεύρεση αναφέρεται σε μέθοδο και σύστημα για την in-vivo, μη καταστρεπτική ανίχνευση και χαρτογράφηση των βιοχημικών ή και των λειτουργικών αλλοιώσεων των ιστών.

5 Η εφεύρεση σχετίζεται με το πεδίο του μη επεμβατικού χαρακτηρισμού και χαρτογράφησης αλλοιώσεων των ιστών. Προπομπός του καρκίνου είναι οι λεγόμενες προκαρκινικές καταστάσεις, οι οποίες είναι θεραπεύσιμες αν διαγνωστούν έγκαιρα. Στην αντίθετη περίπτωση η βλάβη μπορεί να προχωρήσει σε βάθος, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη διηθητικού καρκίνου και την πρόκληση μεταστάσεων. Στο στάδιο αυτό οι πιθανότητες επιτυχούς  
10 θεραπείας περιορίζονται δραματικά. Συνεπώς η έγκαιρη διάγνωση και η άμεση αντικειμενική ταυτοποίηση της σοβαρότητας της προκαρκινικής αλλοίωσης είναι κρίσιμης σημασίας.

Η συνήθης οπτική κλινική εξεταστική διαδικασία έχει πολύ περιορισμένες δυνατότητες ανίχνευσης καρκινικών και προκαρκινικών ιστικών αλλοιώσεων.  
15 Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι δομικές και μεταβολικές αλλαγές οι οποίες λαμβάνουν χώρα κατά την εξέλιξη της νόσου δεν αλλάζουν σημαντικά και με ειδικότητα, τα χρωματικά χαρακτηριστικά του παθολογικού ιστού.

Για την επίτευξη πιο ακριβούς διάγνωσης, λαμβάνονται δείγματα από πιθανές παθολογικές περιοχές του ιστού, τα οποία υπόκεινται σε ιστολογική  
20 ανάλυση. Η διαγνωστική αυτή διαδικασία χαρακτηρίζεται όμως από μία σειρά προβλημάτων και περιορισμών όπως: α) εμπεριέχει μεγάλη πιθανότητα δειγματοληπτικού σφάλματος, η οποία απορρέει από τις περιορισμένες δυνατότητες του ανθρώπινου οπτικού συστήματος να εντοπίζει πιθανές παθολογικές περιοχές, β) η βιοψία μπορεί να αλλάξει τη φυσική εξέλιξη της βλάβης (πρόκληση μετάστασης), γ) παρέχει πληροφορίες για το σημείο από  
25 το οποίο λαμβάνεται το δείγμα χωρίς να είναι δυνατή η χαρτογράφηση της παθολογικής περιοχής, δ) η διαγνωστική αυτή διαδικασία στο σύνολο της είναι χρονοβόρα, υποκειμενική και μή ποσοτική, ενώ χαρακτηρίζεται από υψηλό κόστος οργάνων και ανθρωποπροσπάθειας.

Τα τελευταία χρόνια έχουν παρουσιαστεί αρκετές νέες μέθοδοι και συστήματα σε μια προσπάθεια υπέρβασης των μειονεκτημάτων της συμβατικής διαγνωστικής διαδικασίας. Οι μέθοδοι αυτές μπορούν να καταταγούν σε δύο κατηγορίες: α) Μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται στη φασματική ανάλυση των ιστών για τη λήψη βελτιωμένης διαγνωστικής πληροφορίας, β) Μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται στη χημική διέγερση του ιστού με ουσίες οι οποίες αλληλεπιδρούν επιλεκτικά με τον παθολογικό ιστό, αλλάζουν τα οπτικά του χαρακτηριστικά και ενισχύουν την αντίθεση του με τον υγιή ιστό.

Στην πρώτη περίπτωση, η διαγνωστική χρήση των φασματοσκοπικών τεχνικών βασίζεται στην δυνατότητά τους να ανιχνεύουν αλλαγές στα βιοχημικά ή και τα δομικά χαρακτηριστικά, οι οποίες λαμβάνουν χώρα στον ιστό κατά την εξέλιξη της νόσου. Ειδικότερα, η φασματοσκοπία φθορισμού έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε διάφορους ιστούς, συνίσταται δε στην διέγερση του ιστού με πηγή φωτός (συνήθως Laser), μικρού μήκους κύματος (περιοχή μπλε-υπεριώδους) και στην μέτρηση των χαρακτηριστικών του επανεκπεμπόμενου φωτός (ένταση vs. μήκος κύματος).

O Garfield and Glassman Pat. No. U.S 5,450,857, και Ramanajum et al. Pat. No. US 5,421,339 έχουν παρουσιάσει μεθόδους, ανάλογες των παραπάνω αναφορών, βασισμένες στην χρήση φασματοσκοπίας φθορισμού για την διάγνωση καρκινικών και προκαρκινικών καταστάσεων του τραχήλου της μήτρας. Το βασικό μειονέκτημα της φασματοσκοπίας φθορισμού είναι ότι οι υπάρχουσες βιοχημικές μεταβολές δεν εκφράζονται με άμεσο τρόπο ως μεταβολές στα φάσματα φθορισμού. Τα φάσματα φθορισμού περιέχουν πολύ περιορισμένη διαγνωστική πληροφορία για δύο βασικούς λόγους :

- α) Ο ιστός περιέχει μη φθορίζοντα συστατικά, όπως η αιμοσφαιρίνη, τα οποία απορροφούν τα εκπεμπόμενα φωτόνια φθορισμού, με αποτέλεσμα να εμφανίζονται στα φάσματα μέγιστα ή ελάχιστα τα οποία δεν σχετίζονται με τις βιοχημικές μεταβολές στον ιστό.
- β) Τα φάσματα έχουν μεγάλο εύρος λόγω του ότι συνήθως μαζί με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά τα οποία αλλάζουν κατά την εξέλιξη της νόσου, διεγείρεται ένας μεγάλος αριθμός συστατικών του ιστού, τα οποία δεν

συνεισφέρουν στη διαγνωστική διαδικασία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να καταγράφεται πεπλεγμένη πληροφορία με μικρή διαγνωστική αξία.

Λόγω των παραπάνω λόγων, τα λαμβανόμενα φάσματα φθορισμού χαρακτηρίζονται από μικρή ευαισθησία και ειδικότητα στην ανίχνευση και  
5 κατηγοριοποίηση των ιστικών αλλοιώσεων.

Με στόχο την ενίσχυση της ευαισθησίας και της ειδικότητας της λαμβανόμενης πληροφορίας οι Ramanujan et al Pat. No. WO 9,824,369, έχουν παρουσιάσει μέθοδο βασισμένη στην χρήση νευρωνικών δικτύων, για την ανάλυση των φασματικών δεδομένων. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην  
10 εκπαίδευση ενός υπολογιστικού συστήματος με ένα μεγάλο αριθμό φασμάτων, τα οποία έχουν ληφθεί από φυσιολογικούς και παθολογικούς ιστούς. Το φάσμα το οποίο λαμβάνεται σε κάθε μέτρηση συγκρίνεται με τα αποθηκευμένα φασματικά δεδομένα, διευκολύνοντας με το τρόπο αυτό την ταυτοποίηση της παθολογίας του ιστού.

Οι R.R. Kortun et al, Pat. No US 5,697,373, επιδιώκοντας την βελτίωση της λαμβανόμενης διαγνωστικής πληροφορίας, έχουν παρουσιάσει μέθοδο βασισμένη στον συνδυασμό φασματοσκοπίας φθορισμού και Raman  
15 σκέδασης. Η τελευταία έχει την δυνατότητα να παράσχει περισσότερες αναλυτικές πληροφορίες απαιτεί όμως πολύπλοκο εξοπλισμό και ιδανικές πειραματικές συνθήκες τα οποία δυσχεραίνουν σημαντικά την κλινική τους  
20 χρήση.

Είναι γενικά γνωστό ότι οι ιστοί χαρακτηρίζονται από μεγάλη ανομοιογένεια και συνεπώς η φασματοσκοπική ανάλυση επιμέρους χωρικών σημείων δεν επαρκεί για τον χαρακτηρισμό της κατάστασής τους.

Ο Dombrowski, Pat. No US 5,424,543, περιγράφει ένα σύστημα απεικονιστικής φασματοσκοπίας, μέσω του οποίου είναι δυνατή η λήψη  
25 εικόνων σε διάφορες φασματικές περιοχές. Μέσω της φασματικής απεικόνισης είναι εν γένει δυνατή η χαρτογράφηση χαρακτηριστικών διαγνωστικής σημασίας. Λόγω όμως της μη σημαντικότητας των φασματικών  
30 διαφορών μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού η παρατήρηση σε στενές φασματικές περιοχές δεν επιτρέπει την ανάδειξη των χαρακτηριστικών αυτών και πολύ περισσότερο την ταυτοποίηση και σταδιοποίηση της

παθολογικής περιοχής.

Οι D.R. Sandison et al, Pat. No US 5,920,399, περιγράφουν ένα απεικονιστικό σύστημα το οποίο συνδυάζει απεικόνιση και διέγερση του αντικειμένου σε διάφορες στενές φασματικές περιοχές. Το σύστημα αυτό αναπτύχθηκε για την in-vivo μελέτη των κυττάρων και συνδυάζεται με ένα σύστημα οπτικών για την μεταφορά και την συλλογή του προσπίπτοντος και επανεκπεμπόμενου φωτός αντίστοιχα. Οι δύο αυτές δέσμες οπτικών ινών φέρονται σε επαφή με τον ιστό και επιδιώκεται η ενίσχυση της φασματικής διαφοροποίησης φυσιολογικού και παθολογικού ιστού συνδυάζοντας διάφορα μήκη κύματος διέγερσης και απεικόνισης.

Οι J.R. Delfyett et al, Pat. No US 5,921,926, έχουν παρουσιάσει μία μέθοδο διάγνωσης των παθήσεων του τραχήλου της μήτρας η οποία βασίζεται στον συνδυασμό φασματικής συμβολομετρίας (spectral interferometry) και της τομογραφίας σύμφωνου φωτός (Optical Coherence Tomography (OCT)). Το σύστημα αυτό συνδυάζει τρισδιάστατη απεικόνιση και φασματική του ανάλυση του ιστού.

Έχουν ακόμη παρουσιαστεί κολποσκοπία στα οποία προσαρμόζονται ηλεκτρονικές απεικονιστικές διατάξεις (D.R. Craine et al, Pat. No US 5791346 και K.L. Blaiz Pat. No US 5989184) για την απεικόνιση και επεξεργασία της εικόνας του ιστού. Στην δεύτερη περίπτωση η προτεινόμενη διάταξη επιτρέπει επίσης την μέτρηση των διαστάσεων της ιστικής αλλοίωσης.

Για την ενίσχυση της οπτικής διαφοροποίησης μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού χρησιμοποιούνται σε διάφορα πεδία της βιοϊατρικής διαγνωστικής, ειδικές ουσίες οι οποίες χορηγούνται τοπικά ή συστηματικά. Τέτοιες ουσίες είναι διάλυμα οξικού οξέως, μπλε της τουλουουδίνης, διάφορες φωτοευαισθητοποιές ουσίες (πορφυρίνες) [10] κλπ. Η προκαλούμενη επιλεκτική χρώση του παθολογικού ιστού οφείλεται στην ιδιότητα των ουσιών αυτών να αλληλεπιδρούν με τα διαφοροποιημένα μεταβολικά και δομικά χαρακτηριστικά της παθολογικής περιοχής. Η αλληλεπίδραση αυτή ενισχύει προοδευτικά και παροδικά τις διαφορές στα φασματικά χαρακτηριστικά της ανάκλασης ή/και του φθορισμού μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Παρά το γεγονός ότι η προκαλούμενη επιλεκτική χρώση των παθολογικών

O.B.I.

ιστών είναι ένα φαινόμενο δυνάμικό, στην κλινική πράξη η ένταση και η έκταση της χρώσης εκτιμώνται ποιοτικά και στατικά. Ακόμη, σε αρκετές περιπτώσεις πρώιμων παθολογικών καταστάσεων το φαινόμενο της παροδικής χρώσης, μετά την χορήγηση της ουσίας, διαρκεί πολύ λίγο και έτσι ο εξεταστής δεν είναι σε θέση να ανιχνεύσει τις προκαλούμενες μεταβολές και πολύ περισσότερο να εκτιμήσει την ένταση και την έκτασή τους. Σε άλλες πάλι περιπτώσεις η χρώση του ιστού γίνεται πολύ αργά, με συνέπεια την ταλαιπωρία του ασθενούς και την δημιουργία προβλημάτων στον εξεταστή στο να εκτιμήσει την ένταση και την έκταση των μεταβολών, αφού αυτά μεταβάλλονται συνεχώς. Τα παραπάνω έχουν σαν άμεση συνέπεια την υποβάθμιση της διαγνωστικής αξίας της εν λόγω διαγνωστικής διαδικασίας και έτσι η χρησιμότητά του περιορίζεται βασικά στην διευκόλυνση του εντοπισμού της ύποπτης περιοχής για την λήψη δείγματος βιοψίας.

Συνοψίζοντας τα όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, συνάγονται τα εξής συμπεράσματα:

- α) Έχουν προταθεί διάφορες συμβατικές φασματοσκοπικές τεχνικές (φθορισμού, σκέδασης) για την in vivo ανίχνευση των μεταβολών στα δομικά χαρακτηριστικά του παθολογικού ιστού. Ένα σημαντικό μειονέκτημα των τεχνικών αυτών ότι παρέχουν σημειακή πληροφορία, η οποία δεν επαρκεί για την ανάλυση των χωρικά ανομοιογενών ιστών. Η φασματική απεικόνιση επιλύει το πρόβλημα αυτό, παρέχοντας φασματική πληροφορία (μικρότερης κατά κανόνα ανάλυσης) σε κάθε χωρικό σημείο της εξεταζόμενης περιοχής. Ανεξάρτητα όμως από τα παραπάνω, οι τεχνικές αυτές (απεικονιστικές και μη) παρέχουν πληροφορίες περιορισμένης διαγνωστικής αξίας, λόγω του γεγονότος ότι οι δομικές διαταραχές, οι οποίες συνεπικουρούν την εξέλιξη της νόσου, δεν εκφράζονται σαν σημαντικές και χαρακτηριστικές μεταβολές των μετρούμενων φασμάτων. Συνεπώς η λαμβανόμενη φασματική πληροφορία δεν μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με την παθολογία του ιστού, γεγονός το οποίο περιορίζει την κλινική χρησιμότητα των τεχνικών αυτών.
- β) Οι κλασικές (μη φασματικές) απεικονιστικές τεχνικές παρέχουν την δυνατότητα χαρτογράφησης χαρακτηριστικών διαγνωστικής σημασίας σε

2 ή 3 διαστάσεις. Χρησιμοποιούνται βασικά για την μέτρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών και σαν εργαλεία κλινικής τεκμηρίωσης.

5 γ) Η δυνατότητα επιλεκτικής χρώσης των παθολογικών ιστών με ειδικές ουσίες επιτρέπει την ενίσχυση της οπτικής αντίθεσης μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού αλλά δεν παρέχει πληροφορίες για την ταυτοποίηση και την σταδιοποίηση της πάθησης.

Με δεδομένο το γεγονός ότι η επιλεκτική αλληλεπίδραση παθολογικού ιστού και ουσιών, οι οποίες ενισχύουν την οπτική αντίθεση του με τον υγιή ιστό είναι ένα δυναμικό φαινόμενο, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η  
10 καταγραφή και η ανάλυση των χαρακτηριστικών της κινητικής του φαινομένου αυτού θα μπορούσε να δώσει σημαντικές πληροφορίες για την in-vivo ανίχνευση, ταυτοποίηση και σταδιοποίηση παθολογικών αλλοιώσεων των ιστών. Σε προηγούμενη δημοσίευση ενός εκ των εφευρετών [12] παρουσιάζονται αποτελέσματα από την μέτρηση των μεταβολών στα  
15 χαρακτηριστικά οπισθοσκεδαζόμενου φωτός σαν συνάρτηση του μήκους κύματος και χρόνου, οι οποίες προκαλούνται με την τοπική εφαρμογή αραιού διαλύματος οξικού οξέως στον τράχηλο της μήτρας. Στην επιμέρους αυτή περίπτωση χρησιμοποιήθηκε σαν πειραματική διάταξη ένα γενικής χρήσης σύστημα πολυφασματικής απεικόνισης υγρών κρυστάλλων για την μέτρηση  
20 των μεταβολών της έντασης του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός σαν συνάρτηση του χρόνου και του μήκους κύματος σε επιλεγμένα χωρικά σημεία. Βρέθηκε ότι οι καμπύλες έντασης οπισθοσκεδαζόμενου φωτός έναντι του χρόνου διαφοροποιούνται έντονα και με τρόπο που συσχετίζεται με την παθολογία του ιστού. Α δημοσιεύτα αποτελέσματα της ίδιας ερευνητικής ομάδας  
25 συνηγορούν ότι ανάλογα αποτελέσματα μπορούν να ληφθούν και με άλλες ουσίες, οι οποίες έχουν την ιδιότητα να ενισχύουν την οπτική αντίθεση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Η πειραματική μέθοδος η οποία χρησιμοποιήθηκε στην δημοσιευμένη εργασία χαρακτηρίζεται από αρκετά μειονεκτήματα όπως:

30 α) Ο απεικονιστικός μονοχρωμάτορας απαιτεί χρόνο για την αλλαγή του μήκους κύματος απεικόνισης και συνεπώς δεν είναι κατάλληλος για την πολυφασματική απεικόνιση και ανάλυση δυναμικά εξελισσόμενων

φαινομένων.

β) Δεν συνιστά μέθοδο χαρτογράφησης του βαθμού της αλλοίωσης του ιστού αφού παρουσιάζονται καμπύλες οι οποίες εκφράζουν την χρονική μεταβολή της έντασης του οπισθοσκεδαζόμενου φωτός σε επιλεγμένα σημεία.

5 γ) Δεν προσδιορίζονται αριθμητικές παράμετροι χαρακτηριστικές της κινητικής του φαινομένου, σε κάθε χωρικό σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος, το οποίο έχει μεγάλη σημασία στην περίπτωση ανάλυσης ιστών, αφού, ως γνωστόν, τα βιολογικά υλικά χαρακτηρίζονται από μεγάλη χωρική ανομοιογένεια.

10 δ) Ο φακός ο οποίος χρησιμοποιείται για την απεικόνιση της περιοχής ενδιαφέροντος είναι γενικής χρήσης και δεν έχει τις προδιαγραφές και τα χαρακτηριστικά των ιατρικών οπτικών διαγνωστικών οργάνων.

ε) Η κλινικές μετρήσεις με το σύστημα το οποίο παρουσιάζεται στην δημοσίευση αυτή, είναι ανακριβείς επειδή δεν εξασφαλίζεται η σταθερότητα της σχετικής θέσης οπτικού απεικονιστικού συστήματος και εξεταζόμενου ιστού. Έτσι, λόγω των μικροκινήσεων (πχ αναπνοή), τα εικονοστοιχεία των εικόνων που αποθηκεύονται σε χρονικά διαδοχικές στιγμές με τις ίδιες χωρικές συντεταγμένες, δεν καταγράφουν το φως το οποίο εκπέμπεται ακριβώς την ίδια χωρική περιοχή του ιστού. Αυτό μειώνει σημαντικά την ακρίβεια υπολογισμού της καμπύλης κινητικής του φαινομένου σε κάθε εικονοστοιχείο.

20 Μέρος των προβλημάτων αυτών επιλύονται σε πρόσφατη δημοσίευση ενός εκ των εφευρετών [13], όπου εκτός των άλλων παρουσιάζονται αποτελέσματα από την χρήση του διαλύματος οξικού οξέως για την χημική διέγερση του λάρυγγα. Διαπιστώνεται ότι και ο ιστός αυτός αποκρίνεται στην διέγερση αυτή, το οποίο, σε συνδυασμό με άλλα αδημοσίευτα αποτελέσματα, συνηγορεί ότι μπορεί να χρησιμοποιηθούν διάφορες ουσίες για την χημική διέγερση διαφόρων οργάνων. Οι ουσίες οι οποίες επιλέγονται για τον σκοπό αυτό πρέπει να μη προκαλούν παρενέργειες στον άνθρωπο, να προκαλούν ειδικές και ανιχνεύσιμες μεταβολές στα οπτικά χαρακτηριστικά του παθολογικού ιστού, ενώ ο ρυθμός μεταβολής των χαρακτηριστικών αυτών να είναι κατάλληλος έτσι ώστε να είναι κλινικά υλοποιήσιμη η in vivo καταγραφή της κινητικής του φαινομένου. Στην ίδια εργασία [13], παρουσιάζεται επίσης

μια πρώτη προσέγγιση του προβλήματος της χαρτογράφησης της περιοχής ενδιαφέροντος και παραμετρικής ανάλυσης του φαινομένου. Μέρος των ευρημάτων και των μεθόδων της εργασίας αυτής περιλαμβάνεται στις αξιώσεις της εν λόγω εφεύρεσης. Στην παρούσα εφεύρεση παρουσιάζεται μέθοδος και σύστημα για την in vivo ανίχνευση αλλοιώσεων στα βιοχημικά ή και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά ιστών, καθώς και την χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των χαρακτηριστικών αυτών. Η μέθοδος βασίζεται στην μέτρηση και χαρτογράφηση της κινητικής της απόκρισης ιστών σε οπτική και χημική διέγερση. Το σύστημα παρέχει την δυνατότητα μέτρησης και επεξεργασίας των μετρητικών δεδομένων και ενσωματώνει διάφορες τεχνολογικές βελτιώσεις απαραίτητες για την κλινική του χρήση. Οι τεχνολογικές αυτές βελτιώσεις αποτελούν επίσης μέρος των αξιώσεων της εν λόγω εφεύρεσης.

Η παρούσα εφεύρεση αναφέρεται σε μέθοδο και σύστημα για την in-vivo, μη καταστρεπτική ανίχνευση και χαρτογράφηση των βιοχημικών ή και των λειτουργικών αλλοιώσεων των ιστών.

Το σχήμα 1 παρουσιάζει την βασική αρχή της μεθόδου:

Αφού επιλεγεί η ουσία η οποία ενισχύει την οπτική αντίθεση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού (ανάλογα με την παθολογία του ιστού), αυτή χορηγείται τοπικά ή συστηματικά. Στο σχήμα 1 ο ιστός (T), ψεκάζεται με την χρήση ψεκαστήρα (A), ο οποίος περιέχει την ουσία αυτή. Ταυτόχρονα ο ιστός φωτίζεται με κατάλληλο μήκος κύματος, ανάλογα με τα οπτικά χαρακτηριστικά της ουσίας και του ιστού. Στην περίπτωση για παράδειγμα κατά την οποία το σύστημα ουσία-ιστός εκπέμπει χαρακτηριστικό φθορισμό, ο φωτισμός γίνεται στη φασματική περιοχή διέγερσης της ουσίας σε φθορισμό. Ο φωτισμός και η επιλογή του μήκους κύματος φωτισμού του ιστού μπορεί να γίνεται με την χρήση πηγής φωτός (LS) και μηχανισμού επιλογής οπτικών φίλτρων (OFS).

Για την απεικόνιση της περιοχής ενδιαφέροντος χρησιμοποιούνται οπτικά συλλογής και εστίασης της εικόνας (L) σε διαδιάστατο οπτικό ανιχνευτή (D) το σήμα εξόδου του οποίου ενισχύεται, διαμορφώνεται και



ψηφιοποιείται με την χρήση κατάλληλων ηλεκτρονικών (EIS) και τελικά η εικόνα επιδεικνύεται σε οθόνη (M) και καταχωρείται στα μέσα αποθήκευσης πληροφορίας ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή (PC). Μεταξύ ιστού (T) και ανιχνευτή (D), μπορεί να παρεμβάλλεται οπτικό φίλτρο (OFI). Η παρεμβολή φίλτρου μπορεί να γίνεται για την απεικόνιση του ιστού (T) σε επιλεγμένες φασματικές περιοχές, στις οποίες επιτυγχάνεται η ενίσχυση της οπτικής αντίθεσης μεταξύ περιοχών του ιστού, στις οποίες ιστικές περιοχές προκαλούνται διαφορετικού βαθμού μεταβολές στα οπτικά τους χαρακτηριστικά, μετά την χορήγηση της κατάλληλης ουσίας.

Πριν την χορήγηση της τελευταίας μπορούν να λαμβάνονται εικόνες οι οποίες χρησιμοποιούνται ως αναφορά. Αφού χορηγηθεί η ουσία, ο ανιχνευτής (D), καταγράφει εικόνες του ιστού, σε διαδοχικές χρονικά στιγμές, οι οποίες στην συνέχεια αποθηκεύονται στα μέσα αποθήκευσης πληροφορίας του ηλεκτρονικού υπολογιστή. Ο ρυθμός καταγραφής είναι ανάλογος του ρυθμού με τον οποίο μεταβάλλονται τα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού με την χορήγηση της ουσίας.

Στο σχήμα 1 παρουσιάζονται σχηματικά εικόνες της ίδιας περιοχής του απεικονιζόμενου ιστού, οι οποίες έχουν αποθηκευτεί διαδοχικά πριν και μετά την χορήγηση της ουσίας (STI). Στις εικόνες αυτές οι μαύρες περιοχές αναπαριστούν τον ιστό στο οποίο δεν προκλήθηκαν μεταβολές στα οπτικά του χαρακτηριστικά (NAT), ενώ οι γκρί-άσπρες τμήματα του ιστού στα οποία προκαλούνται αλλαγές (AT), λόγω της χορήγησης της ουσίας. Η ταυτόχρονη καταγραφή της έντασης του επανεκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός σε κάθε χωρικό σημείο της εικονιζόμενης περιοχής του ιστού και σε προκαθορισμένες χρονικές στιγμές επιτρέπει τον προσδιορισμό της κινητικής των προκαλούμενων μεταβολών.

Στο σχήμα 1 απεικονίζονται δύο καμπύλες: τιμή εικονοστοιχείου στην θέση  $xy$  ( $PV_{xy}$ ), έναντι του χρόνου  $t$ . Η καμπύλη ATC αντιστοιχεί σε περιοχή στην οποία χορήγηση της ουσίας προκάλεσε αλλαγές (AT) στα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού και η άλλη (NATC) σε περιοχή στην οποία δεν επήλθε καμιά μεταβολή (NAT).

Η παραμετρική ανάλυση των καμπυλών αυτών σε κάθε εικονοστοιχείο

οδηγεί στον υπολογισμό παραμέτρων όπως: Η τιμή  $PV_{xy}$  στο χρόνο  $t_i$  ο χρόνος χαλάρωση  $t_{rel}$  ο οποίος αντιστοιχεί στην τιμή  $PV_{xy}=A/e$  ( όπου  $e$  η βάση των Νεπερίων λογαρίθμων), κλπ.

- 5 Ο υπολογισμός των παραμέτρων αυτών (P) σε κάθε χωρικό σημείο της εικονιζόμενης περιοχής επιτρέπει τον υπολογισμό της εικόνας ή εικόνων της κινητικής του φαινομένου (KI) με τιμές εικονοστοιχείων συσχετιζόμενες με τις παραμέτρους αυτές. Οι τιμές αυτές μπορούν να αναπαρίστανται με μία κλίμακα ψευδοχρωμάτων ( $P_{min}$ ,  $P_{max}$ ), χωρική κατανομή των οποίων επιτρέπει
- 10 την άμεση οπτική εκτίμηση της έντασης και της έκτασης των προκαλούμενων αλλαγών. Στον βαθμό που υπάρχει συσχέτιση της έντασης και της έκτασης των προκαλούμενων αλλαγών με την παθολογία και το στάδιο της ιστικής αλλοίωσης, τα μετρούμενα ποσοτικά δεδομένα και οι παράμετροι που απορρέουν από αυτά, επιτρέπουν την χαρτογράφηση, τον χαρακτηρισμό και
- 15 την οριοθέτηση της βλάβης. Η ψευδοχρωματική εικόνα της κινητικής του φαινομένου (KI), η οποία εκφράζει τη χωρική κατανομή μιας ή περισσότερων παραμέτρων, μπορεί να υπερτίθεται (μετά τον υπολογισμό της) της εικόνας του ιστού η οποία επιδεικνύεται σε πραγματικό χρόνο στην οθόνη. Με οδηγό την υπερκείμενη εικόνα διευκολύνεται σημαντικά η εκτίμηση των ορίων της βλάβης, για την ασφαλή χειρουργική αφαίρεση της ή για τον εντοπισμό
- 20 ύποπτων περιοχών για τη λήψη δείγματος βιοψίας. Ακόμη με βάση την συσχέτιση κινητικής του φαινομένου και παθολογίας του ιστού, τα μετρούμενα ποσοτικά δεδομένα και οι παράμετροι που απορρέουν από αυτά, μπορούν να αποτελούν ποσοτικούς κλινικούς δείκτες για την in-vivo σταδιοποίηση της
- 25 αλλοίωσης ή υποπεριοχών της.

- Σε μερικές περιπτώσεις είναι αναγκαία η καταγραφή της κινητικής του φαινομένου ταυτόχρονα σε περισσότερες της μιας φασματικής περιοχής. Με τον τρόπο αυτό μπορεί για παράδειγμα να προσδιοριστεί in-vivo, η φασματική περιοχή στην οποία λαμβάνεται το μέγιστο διαγνωστικό σήμα. Η ταυτόχρονη απεικόνιση μπορεί ακόμη να συνεισφέρει στην ελαχιστοποίηση
- 30 της συνεισφοράς της ενδογενούς σκέδασης, φθορισμού και ανάκλασης του ιστού, στο οπτικό σήμα που καταγράφεται από τον ανιχνευτή. Η ταυτόχρονη απεικόνιση σε φασματικές περιοχές στις οποίες εκπέμπεται το χαρακτηριστικό

5 οπτικό σήμα, το οποίο δημιουργείται από την αλληλεπίδραση της χορηγούμενης ουσίας και του ιστού και σε φασματικές περιοχές όπου καταγράφεται βασικά ο ενδογενής φθορισμός, η σκέδαση ή η ανάκλαση αποτελεί έναν τρόπο για την αποσύνθεση των αντίστοιχων συνεισφορών στο καταγραφόμενο οπτικό σήμα. Στο σχήμα 2 παρουσιάζεται ένας τρόπος καταγραφής της κινητικής του φαινομένου αλλαγής των χαρακτηριστικών του επανεκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, πριν και μετά την χορήγηση της ουσίας, σε δύο φασματικές περιοχές ταυτοχρόνως. Το φως το οποίο επανεκπέμπεται από τον ιστό, συλλέγεται από τα οπτικά συλλογής και εστίασης της εικόνας (L) και προσπίπτει σε έναν διαχωριστή δέσμης (BSP). Έτσι προκύπτουν δύο ίδιες εικόνες του ιστού (T) οι οποίες μπορούν να καταγραφούν από δύο ανιχνευτές (D1), (D2). Εμπρός από τον ανιχνευτή μπορούν να τοποθετούνται κατάλληλα οπτικά φίλτρα ( $OF_{\lambda 1}$ ) ( $OF_{\lambda 2}$ ), έτσι ώστε να καταγράφονται εικόνες με διαφορετικά φασματικά χαρακτηριστικά. Για τον διαχωρισμό της εικόνας σε διάφορες φασματικές εικόνες μπορούν ακόμη να χρησιμοποιούνται αντί για διαχωριστές δέσμης και οπτικά φίλτρα, διχρωϊκοί καθρέπτες. Μπορεί ακόμη να γίνεται πολλαπλός διαχωρισμός της δέσμης σε συνδυασμό με πολλαπλά φίλτρα και ανιχνευτές. Οι ανιχνευτές (D1) (D2) συγχρονίζονται έτσι ώστε να συλλαμβάνουν ταυτοχρόνως τις προσπίπτουσες σε αυτούς εικόνες του ιστού ( $T_{\lambda 1}$ ), ( $T_{\lambda 2}$ ) και σε τακτά χρονικά διαστήματα, οι οποίες καταχωρούνται στα μέσα αποθήκευσης του ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Ένας άλλος τρόπος ταυτόχρονης καταγραφής εικόνων διαφορετικών φασματικών περιοχών, παρουσιάζεται στο σχήμα 3. Με την χρήση ειδικού πρίσματος (MIP) και οπτικών συλλογής, είναι δυνατός ο σχηματισμός πολλαπλών αντιγράφων της ίδιας εικόνας στην επιφάνεια του ίδιου ανιχνευτή (D). Κατά μήκος του οπτικού δρόμου σχηματισμού των αντιγράφων της εικόνας του αντικειμένου μπορούν να παρεμβάλλονται οπτικά φίλτρα, ( $OF_{\lambda 1}$ ) ( $OF_{\lambda 2}$ ), ( $OF_{\lambda 3}$ ), ( $OF_{\lambda 4}$ ), έτσι ώστε οι καταγραφόμενες εικόνες να αντιστοιχούν σε διαφορετικές φασματικές περιοχές.

Για την κλινική χρήση της μεθόδου ο ανιχνευτής ή οι ανιχνευτές του συστήματος ηλεκτρονικής απεικόνισης, το οποίο περιγράφεται παραπάνω, μπορούν να προσαρτώνται, μέσω κατάλληλου οπτομηχανικού μηχανισμού,

σε οπτικά απεικονιστικά διαγνωστικά όργανα, τα οποία στην περίπτωση αυτή αποτελούν τα οπτικά συλλογής και εστίασης της εικόνας στην ανιχνευτική διάταξη. Τέτοια οπτικά απεικονιστικά όργανα είναι τα διάφορα ιατρικά

5 μικροσκόπια, όπως αυτά που χρησιμοποιούνται στην χειρουργική και την κολποσκόπηση, καθώς και τα διάφορα ενδοσκόπια. Για την in-vivo παρατήρηση των ιστών με τη χρήση των οργάνων αυτών και ειδικότερα κοιλοτήτων του ανθρωπίνου σώματος, χρησιμοποιείται σχεδόν συνευθειακή γεωμετρία φωτισμού και απεικόνισης της επιφάνειας. Λόγω όμως του

10 γεγονότος αυτού, στην σχηματιζόμενη εικόνα από τα οπτικά απεικόνισης συμμετέχει σημαντικά η επιφανειακή ανάκλαση του ιστού. Η τελευταία αποκρύπτει χαρακτηριστικά του ιστού τα οποία βρίσκονται κάτω από την επιφάνεια του, η παρατήρηση των οποίων έχει σημαντική διαγνωστική αξία. Το πρόβλημα αυτό γίνεται ιδιαίτερα έντονο σε ιστούς όπως τράχηλος της

15 μήτρας, λάρυγγας, η στοματική κοιλότητα κλπ, οι οποίοι καλύπτονται από διάφορα υγρά όπως βλέννα, και σάλιο. Η επιφανειακή ανάκλαση δυσχεραίνει επίσης την ανίχνευση και μέτρηση των αλλαγών στις οπτικές ιδιότητες του ιστού, μετά την χορήγηση ουσιών οι οποίες ενισχύουν την οπτική αντίθεση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Ειδικότερα όταν η

20 χρησιμοποιούμενη ουσία αλλάζει τα χαρακτηριστικά της σκέδασης του παθολογικού ιστού, η επιφανειακή ανάκλαση, υπερτιθέμενη του επανεκπεμπόμενου από το εσωτερικό του ιστού φωτός, προκαλεί την ελάττωση της οπτικής αντίθεσης μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Με βάση τα παραπάνω, η επιφανειακή ανάκλαση αποτελεί οπτικό θόρυβο

25 στο διαγνωστικό σήμα το οποίο δημιουργείται από την αλληλεπίδραση ουσίας και ιστού.

Στην συνέχεια περιγράφονται τροποποιήσεις σε ιατρικά μικροσκόπια και ενδοσκόπια, με σχεδόν συνευθειακή ή συνευθειακή γεωμετρία φωτισμού – απεικόνισης, οι οποίες αποσκοπούν στην αποκοπή ή στην ελαχιστοποίηση

30 της συνεισφοράς της επιφανειακής ανάκλασης στην σχηματιζόμενη εικόνα. Στο σχήμα 4 παρουσιάζεται ιατρικό μικροσκόπιο αποτελούμενο από πηγή φωτός (LS) μηχανισμό επιλογής μεγέθυνσης (MS), προσοφθάλμιο (EP) και υποδοχή για την προσαρμογή απεικονιστικών ανιχνευτών και διατάξεων (CA).

5 Για την αποκοπή της επιφανειακής ανάκλασης χρησιμοποιούνται οπτικά, τα οποία πολώνουν γραμμικά το φως. Το προσπίπτουν στον ιστό φως (LS), πολώνεται γραμμικά με την χρήση πολωτικών οπτικών (LPO). Το ανακλώμενο φως από την επιφάνεια του ιστού (TS), έχει το ίδιο με το προσπίπτον επίπεδο πόλωσης. Προσαρμόζοντας στα οπτικά απεικόνισης, οπτικά γραμμικής πόλωσης του φωτός με επίπεδο πόλωσης κάθετο στο επίπεδο πόλωσης του προσπίπτοντος (IPO), αποκόπτεται η συνεισφορά της επιφανειακής ανάκλασης στην εικόνα που σχηματίζει το μικροσκόπιο. Το φως το οποίο δεν ανακλάται επιφανειακά εισέρχεται στον ιστό, όπου λόγω της

10 πολλαπλής σκέδασης η πόλωση του φωτός τυχαιοποιείται. Έτσι μέρος του επανεκπεμπόμενου φωτός διέρχεται από τα οπτικά πόλωσης του απεικονιστικού συστήματος μεταφέροντας πληροφορία για τα υπό την επιφάνεια χαρακτηριστικά του ιστού.

15 Στο σχήμα 5 παρουσιάζεται ενδοσκόπιο αποτελούμενο από προσοφθάλμιο (EP), προσαρμόσιμο (με την χρήση οπτομηχανικού προσαρμογέα), σε ηλεκτρονικό απεικονιστικό σύστημα, οπτικές ίνες ή κρυστάλλους για την μεταφορά του φωτός και της εικόνας, οπτικά γραμμικής πόλωσης του φωτός, προσαρμοσμένα στην έξοδο της δέσμης (LE) και στην είσοδο του στο ενδοσκόπιο του επανεκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός (II). Το επίπεδο πόλωσης των πολωτικών οπτικών, τα οποία προσαρμόζονται στην έξοδο του φωτός από το ενδοσκόπιο (LPO), είναι κάθετο προς το επίπεδο πόλωσης του πολωτή, ο οποίος προσαρμόζεται στην είσοδο του φωτός στο ενδοσκόπιο. Τα πολωτικά οπτικά του προσπίπτοντος στον ιστό φωτός μπορούν ακόμη να προσαρμόζονται στο σημείο εισόδου του φωτός στο ενδοσκόπιο (IL), αλλά στην περίπτωση αυτή, πρέπει να χρησιμοποιούνται οπτικά μέσα για την κατά μήκος του ενδοσκοπίου μεταφορά του φωτός στην έξοδό του (LE), τα οποία έχουν την ιδιότητα να μην αλλάζουν την πόλωση του φωτός κατά την διάδοσή του (polarization preserving fibers). Τα πολωτικά οπτικά του εισερχόμενου στο ενδοσκόπιο

25 φωτός μπορούν επίσης να προσαρμόζονται πριν ή μετά τον προσοφθάλμιο (EP).

30 Στην περίπτωση κατά την οποία η απεικόνιση ιστών δεν γίνεται σε

5 συνθήκες ακινησίας ή αναισθησίας, οι μικροκινήσεις του εξεταζόμενου έχουν  
 αποτέλεσμα στην σχετική μετακίνηση απεικονιστικού συστήματος –  
 εξεταζόμενου ιστού. Έτσι κατά την χρονικά διαδοχική απεικόνιση η οποία  
 10 διενεργείται για την μέτρηση των αλλαγών στις οπτικές ιδιότητες του ιστού τις  
 οποίες επιφέρει η χορηγούμενη ουσία, δεν απεικονίζεται η ίδια ακριβώς  
 περιοχή του ιστού. Αυτό έχει ως συνέπεια κάθε εικονοστοιχείο των  
 καταγραφόμενων εικόνων να μην αντιστοιχεί στο ίδιο ακριβώς χωρικό σημείο  
 x y της εικονιζόμενης περιοχής του ιστού. Αυτού του είδους πρόβλημα  
 15 αντιμετωπίζεται στην περίπτωση της κολποσκόπησης. Στο σχήμα 6  
 παρουσιάζεται κολποσκοπική διάταξη αποτελούμενη από αρθρωτό βραχίονα  
 (AA), επί του οποίου στερεώνεται η οπτική κεφαλή (OH), η οποία  
 περιλαμβάνει πηγή φωτισμού (LS), αντικειμενικό φακό (OBJ), προσοφθάλμιο  
 (EP) και οπτικά για την επιλογή της μεγέθυνσης (MS). Επί της ανιχνευτικής  
 20 κεφαλής (OH), προσαρμόζεται η διάταξη απεικονιστικού συστήματος μέσω  
 κατάλληλου προσαρμογέα. Στην διάταξη αυτή ο κολποδιαστολέας (KD) είναι  
 συνδεδεμένος μηχανικά με την οπτική κεφαλή (OH), έτσι ώστε ο διαμήκης  
 άξονας συμμετρίας του (LA), να είναι κάθετος προς την κεντρική περιοχή του  
 αντικειμενικού φακού (OB). Ο κολποδιαστολέας εισέρχεται στον κόλπο και  
 25 σταθεροποιείται στα παράπλευρα τοιχώματα και όντας συνδεδεμένος  
 μηχανικά με την οπτική κεφαλή (OH) και τον βραχίονα (AA), ελαχιστοποιείται  
 το εύρος των δυνατών σχετικών μικρο-μετακινήσεων εξεταζόμενου ιστού–  
 απεικονιστικού συστήματος.

25 Για την προσαρμογή της μεθόδου του συστήματος μέτρησης των  
 αλλαγών στα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού, οι οποίες προκαλούνται από  
 την χορηγούμενη ουσία η οποία ενισχύει την οπτική αντίθεση μεταξύ  
 φυσιολογικού και παθολογικού ιστού, είναι σημαντικό να επιτυγχάνεται ο  
 συγχρονισμός της διαδικασίας τοπικής εφαρμογής της ουσίας και της έναρξης  
 της διαδικασίας απεικόνισης. Στο σχήμα 6 ένας ψεκαστήρας (A) τοποθετείται  
 30 εμπρός από την οπτική κεφαλή και ψεκάζει ελεγχόμενη ποσότητα ουσίας  
 όταν η μονάδα (MIC) δεχθεί κατάλληλη εντολή από τον υπολογιστή του  
 συστήματος ηλεκτρονικής απεικόνισης. Η μονάδα (MIC), αποτελείται από  
 ηλεκτρονικά ελέγχου ψεκασμού και μπορεί να ενσωματώνει και το δοχείο

αποθήκευσης της ουσίας. Έτσι η εντολή ψεκασμού μπορεί να συγχρονίζεται με την έναρξη της διαδικασίας της διαδοχικής χρονικά απεικόνισης.

5 Στα περισσότερα ιατρικά οπτικά μικροσκόπια η γεωμετρία φωτισμού – απεικόνισης είναι σχεδόν συνευθειακή. Ειδικότερα η κάθετος στο σημείο εξόδου του φωτός στον αέρα και η κάθετος στον αντικειμενικό φακό σχηματίζουν γωνία μερικών μοιρών. Έτσι τα μικροσκόπια αυτά λειτουργούν σε συγκεκριμένη απόσταση από το αντικείμενο, στην οποία το τμήμα του ιστού το οποίο φωτίζεται, συμπίπτει με το τμήμα το οποίο απεικονίζεται. Τα  
10 μικροσκόπια αυτά κρίνονται ακατάλληλα για τις περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες απαιτείται απεικόνιση ιστών από μικρές αποστάσεις ή και διαμέσου κοιλοτήτων του ανθρωπίνου σώματος μικρής διαμέτρου. Στην περίπτωση της κολποσκόπησης, η μη κατακόρυφη πρόσπτωση του φωτός, έχει εκτός των άλλων ως αποτέλεσμα την πολλαπλή ανάκλασή του στον κολποδιαστολέα. Αυτό δημιουργεί προβλήματα στην περίπτωση προσαρμογής της μεθόδου  
15 μέτρησης των αλλαγών στα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού, οι οποίες προκαλούνται με την χορήγηση ουσίας η οποία ενισχύει την οπτική αντίθεση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού. Ειδικότερα, στην περίπτωση κατά την οποία είναι επιθυμητή η αποκοπή της επιφανειακής ανάκλασης του ιστού, η πρόσπτωση του γραμμικά πολωμένου φωτός στα τοιχώματα του κολποδιαστολέα και η πολλαπλή του ανάκλαση σε αυτόν, έχει ως  
20 αποτέλεσμα την τυχαιοποίηση της γραμμικής του πόλωσης, με συνέπεια να μην είναι δυνατή η αποκοπή της επιφάνειας ανάκλασης του ιστού με την χρήση ζεύγους οπτικών γραμμικής πόλωσης του φωτός.

25 Στο σχήμα 7 παρουσιάζεται μια διάταξη μέσω της οποίας επιτυγχάνεται ακριβώς συνευθειακή γεωμετρία προσπίπτοντας φωτισμού – απεικόνισης. Χρησιμοποιείται ένας ανακλαστικός αντικειμενικός (RO), αποτελούμενος από καθρέφτη πρώτης (1RM) και δεύτερης (2RM) ανάκλασης, όπου στο πίσω μέρος του καθρέφτη 2<sup>ης</sup> ανάκλασης (2RM) (μη ανακλαστικό) τοποθετείται  
πηγή φωτός (LS) και οπτικά σταθερής ή μεταβλητής εστίασης δέσμης του  
30 εκπεμπόμενου φωτός (S0). Ο ανακλαστικός αυτός αντικειμενικός (RO), αντικαθιστώντας τον κοινό διαθλαστικό αντικειμενικό ο οποίος χρησιμοποιείται στα κλασικά μικροσκόπια, παρέχει την δυνατότητα απεικόνισης κοιλοτήτων

μικρής διαμέτρου με ελευθερία επιλογής της απόστασης εργασίας. Τα οπτικά διαμόρφωσης και εστίασης της δέσμης μπορούν να ρυθμίζονται ταυτόχρονα με τον μηχανισμό μεταβολής της μεγέθυνσης του οπτικού απεικονιστικού συστήματος, έτσι ώστε να μεταβάλλεται ταυτόχρονα και αντίστοιχα η επιφάνεια φωτισμού και απεικόνισης. Αυτό εκτός των άλλων, έχει ως αποτέλεσμα την διατήρηση της φωτεινότητας της εικόνας ανεξάρτητα από την μεγέθυνση παρατήρησης. Στην περίπτωση του κολποσκοπίου το οποίο φέρει ανακλαστικό αντικειμενικό, η συνευθειακή γεωμετρία φωτισμού – απεικόνισης και η δυνατότητα εστίασης της εκπεμπόμενης δέσμης εξασφαλίζει την αποφυγή της πρόσπτωσής της στα τοιχώματα του κολποδιαστολέα και διατήρηση του επιπέδου πόλωσης της.

15

20

25

30



## ΑΞΙΩΣΕΙΣ

5 1. Μη καταστρεπτική μέθοδος ανίχνευσης αλλοιώσεων στα βιοχημικά ή/και στα λειτουργικά χαρακτηριστικά ιστών, οι οποίες προκαλούνται κατά την ανάπτυξη καρκίνων και προ-καρκίνων των επιθηλιακών ιστών και χαρτογράφησης του βαθμού αλλοίωσης των χαρακτηριστικών αυτών, in vivo, η οποία περιλαμβάνει:

10 α) Χορήγηση ουσίας ή συνδυασμού ουσιών οι οποίες αλληλεπιδρούν με περιοχές του ιστού με αλλοιωμένη βιοχημική σύνθεση ή και κυτταρική λειτουργικότητα και αλλάζουν παροδικά τα φασματικά χαρακτηριστικά της ανάκλασης, ή και του φθορισμού, ή και της σκέδασης, των περιοχών αυτών

β) Έκθεση της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού σε οπτική ακτινοβολία ευρέως φάσματος

15 γ) Ταυτόχρονη μέτρηση της έντασης του εκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, σε κάθε χωρικό σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού, σε δεδομένη χρονική στιγμή και για μια πολλαπλότητα χρονικών στιγμών, κατά την διάρκεια της οπτικής και χημικής διέγερσής του,

20 Χαρακτηριζόμενη από τον in vivo προσδιορισμό του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών σε κάθε χωρικό σημείο της εξεταζόμενης περιοχής του ιστού, με βάση τον προσδιορισμό της χωρικής κατανομής των μεταβολών στα χαρακτηριστικά του εκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, σε δεδομένες χρονικές στιγμές, πριν και μετά την οπτική και χημική διέγερση του ιστού ή/και με βάση τον προσδιορισμό της χωρικής κατανομής των παραμέτρων, οι οποίες υπολογίζονται από τις

25 χαρακτηριστικές καμπύλες της κινητικής των προκαλούμενων αλλαγών στα χαρακτηριστικά του εκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, οι οποίες χαρακτηριστικές καμπύλες μετρούνται ταυτόχρονα σε κάθε χωρικό σημείο της εξεταζόμενης περιοχής κατά την διάρκεια της οπτικής και χημικής διέγερσης του ιστού.

30 2. Η μέθοδος της αξίωσης 1 χαρακτηριζόμενη από το ότι στην περίπτωση των παθολογικών αλλοιώσεων του επιθηλίου της μήτρας, χορηγείται τοπικά διάλυμα οξικού οξέως και εναλλακτικά διάφορα όξινα και βασικά διαλύματα τα

οποία προκαλούν επιλεκτική μεταβολή στα φασματικά χαρακτηριστικά σκέδασης του παθολογικού ιστού.

3. Η μέθοδος της αξίωσης 1 χαρακτηριζόμενη από το ότι στην περίπτωση των παθολογικών αλλοιώσεων των διάφορων επιθηλιακών ιστών, χορηγείται  
5 τοπικά διάλυμα οξικού οξέως και εναλλακτικά διάφορα όξινα και βασικά διαλύματα τα οποία προκαλούν επιλεκτική μεταβολή στα φασματικά χαρακτηριστικά σκέδασης του παθολογικού ιστού.

4. Η μέθοδος των αξιώσεων 1,2 & 3 χαρακτηριζόμενη από το ότι η περιοχή ενδιαφέροντος του ιστού εκτίθεται σε οπτική ακτινοβολία στενότερη  
10 φασματικά από το φασματικό εύρος εκπομπής της πηγής φωτισμού.

5. Η μέθοδος των αξιώσεων 1,2 & 3 χαρακτηριζόμενη από το ότι η ένταση του εκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, σε κάθε χωρικό σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού, μετράται σε φασματική περιοχή με φασματικό εύρος  
15 μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του οπτικού αισθητήρα.

6. Η μέθοδος των αξιώσεων 1,2 & 3 χαρακτηριζόμενη από το ότι η ένταση του εκπεμπόμενου από τον ιστό φωτός, σε κάθε χωρικό σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού, μετράται ταυτόχρονα σε περισσότερες της μιας  
20 φασματικές περιοχές, οι οποίες έχουν φασματικό εύρος μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του οπτικού αισθητήρα.

7. Σύστημα μη καταστρεπτικής ανίχνευσης αλλοιώσεων στα βιοχημικά ή και στα λειτουργικά χαρακτηριστικά ιστών, οι οποίες προκαλούνται κατά την ανάπτυξη καρκίνων και προ-καρκίνων των επιθηλιακών ιστών και χαρτογράφησης του βαθμού αλλοίωσης των χαρακτηριστικών αυτών, in vivo,  
25 η οποία περιλαμβάνει:

- α) Οπτικά για την οπτική απεικόνιση της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού
- β) Οπτοηλεκτρονικά απεικονιστικά μέσα για την καταγραφή της εικόνας της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού
- γ) Ηλεκτρονικά μέσα για την διαμόρφωση, μεταφορά, επίδειξη και καταχώριση  
30 της εικόνας της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού
- δ) Ηλεκτρονικό υπολογιστή
- ε) Οθόνη για την επίδειξη εικόνων, καμπυλών και αριθμητικών δεδομένων

στ) Οπτικά για τον οπτικό πολλαπλασιασμό της εικόνας της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού

ζ) Πηγή φωτός για τον φωτισμό της περιοχής ενδιαφέροντος

5 η) Οπτικά φίλτρα για την επιλογή της φασματική περιοχής απεικόνισης και φωτισμού

θ) Οπτική διάταξη για την μεταφορά του φωτός και τον φωτισμό της περιοχής ενδιαφέροντος

ι) Ηλεκτρονικά ελέγχου

η) Λογισμικό για την ανάλυση και επεξεργασία των δεδομένων

10 το οποίο επιτελεί καταχώρηση εικόνων της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού, σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές και για μια πολλαπλότητα χρονικών στιγμών, πριν και μετά την χορήγηση ουσίας, ή συνδυασμού ουσιών οι οποίες αλληλεπιδρούν με περιοχές του ιστού με αλλοιωμένη βιοχημική σύνθεση ή και κυτταρική λειτουργικότητα

15 Χαρακτηριζόμενη από τον προσδιορισμό, εικόνας ή εικόνων οι οποίες εκφράζουν την χωρική κατανομή των χαρακτηριστικών της κινητικής των προκαλούμενων αλλαγών στα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού πριν και μετά την εφαρμογή της ουσίας, με τιμές εικονοστοιχείων συσχετιζόμενες με την χωρική κατανομή των μεταβολών της έντασης του εκπεμπόμενου από τον

20 ιστό φωτός, σε δεδομένες χρονικές στιγμές, πριν και μετά την οπτική και χημική διέγερση του ιστού ή/και με την χωρική κατανομή παραμέτρων οι οποίες απορρέουν από την συνάρτηση: τιμή εικονοστοιχείου έναντι του χρόνου, η οποία υπολογίζεται από τις καταχωρημένες εικόνες και για κάθε σειρά εικονοστοιχείων με τις ίδιες χωρικές συντεταγμένες, την καταχώριση και

25 την επίδειξη εικόνας ή εικόνων της κινητικής των προκαλούμενων αλλαγών στα οπτικά χαρακτηριστικά του ιστού πριν και μετά την εφαρμογή της ουσίας και την χαρτογράφηση περιοχών του ιστού με διαφορετικού τύπου και βαθμού αλλοιώσεις, με βάση τις τιμές των εικονοστοιχείων της εικόνας ή των εικόνων που εκφράζουν την κινητική του φαινομένου.

30 8. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι μεταξύ ιστού και αισθητήρα παρεμβάλλεται οπτικό φίλτρο για την καταγραφή διαδοχικών χρονικά εικόνων με φασματικό εύρος μικρότερο από το

φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του οπτικού αισθητήρα.

9. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιείται ένας οπτικός διαχωριστής εικόνας ο οποίος δημιουργεί δύο όμοιες εικόνες της περιοχής ενδιαφέροντος, οι οποίες καταγράφονται από δύο  
5 απεικονιστικούς ανιχνευτές και οπτικά φίλτρα με φασματικό εύρος μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του οπτικού ανιχνευτή, τα οποία παρεμβάλλονται στον οπτικό δρόμο σχηματισμού των εικόνων αυτών, έτσι ώστε να καταγράφονται δύο ομάδες χρονικά διαδοχικών εικόνων της ίδιας περιοχής του ιστού, με την κάθε ομάδα να αντιστοιχεί σε  
10 διαφορετικές φασματικές περιοχές.

10. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιούνται περισσότεροι του ενός οπτικοί διαχωριστές εικόνας, οι οποίοι δημιουργούν πολλαπλές όμοιες εικόνες της περιοχής ενδιαφέροντος και καταγράφονται από πολλαπλούς απεικονιστικούς ανιχνευτές και οπτικά  
15 φίλτρα με φασματικό εύρος μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας των οπτικών ανιχνευτών, τα οποία παρεμβάλλονται στον οπτικό δρόμο σχηματισμού των εικόνων αυτών, έτσι ώστε να καταγράφονται πολλαπλές ομάδες χρονικά διαδοχικών εικόνων της ίδιας περιοχής του ιστού, με την κάθε ομάδα να αντιστοιχεί σε διαφορετικές  
20 φασματικές περιοχές.

11. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιείται ένας οπτικός διαχωριστής εικόνας, ο οποίος δημιουργεί πολλαπλές όμοιες εικόνες της περιοχής ενδιαφέροντος, οι οποίες καταγράφονται από πολλαπλούς απεικονιστικούς ανιχνευτές και οπτικά  
25 φίλτρα με φασματικό εύρος μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας των οπτικών ανιχνευτών, τα οποία παρεμβάλλονται στον οπτικό δρόμο σχηματισμού των εικόνων αυτών, έτσι ώστε να καταγράφονται πολλαπλές ομάδες χρονικά διαδοχικών εικόνων της ίδιας περιοχής του ιστού, με την κάθε ομάδα να αντιστοιχεί σε διαφορετικές  
30 φασματικές περιοχές.

12. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιείται ένας οπτικός διαχωριστής εικόνας, ο οποίος δημιουργεί

πολλαπλές όμοιες εικόνες της περιοχής ενδιαφέροντος οι οποίες καταγράφονται από ένα απεικονιστικό ανιχνευτή και οπτικά φίλτρα με φασματικό εύρος μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του οπτικού ανιχνευτή, τα οποία παρεμβάλλονται στον οπτικό

5 δρόμο σχηματισμού των εικόνων αυτών, έτσι ώστε σε υποπεριοχές του ίδιου ανιχνευτή να καταγράφονται σε κάθε χρονική στιγμή και ταυτόχρονα σε πολλαπλές φασματικές περιοχές η ίδια περιοχή του ιστού.

13. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιείται οπτικό φίλτρο το οποίο παρεμβάλλεται στον οπτικό δρόμο

10 της δέσμης φωτισμού του ιστού, έτσι ώστε το φασματικό εύρος του φωτισμού να είναι μικρότερο από το φασματικό εύρος της ανιχνευτικής ικανότητας του χρησιμοποιούμενου οπτικού αισθητήρα.

14. Το σύστημα της αξίωσης 7, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι χρησιμοποιούνται οπτικά φίλτρα και μηχανισμός επιλογής τους, τα οποία

15 παρεμβάλλονται στον οπτικό δρόμο της δέσμης φωτισμού του ιστού, έτσι ώστε το φασματικό εύρος του φωτισμού να είναι μεταβλητό.

15. Το σύστημα των αξιώσεων 7 έως 14 το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι ή χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και λειτουργικών χαρακτηριστικών της εξεταζόμενης περιοχής του ιστού γίνεται με βάση τις

20 τιμές των εικονοστοιχείων μιας εικόνας, από το σύνολο των καταχωρημένων χρονικά διαδοχικών εικόνων της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού.

16. Το σύστημα των αξιώσεων 7-14, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι ή χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών της εξεταζόμενης περιοχής του ιστού, γίνεται

25 με βάση τις τιμές των εικονοστοιχείων μιας πολλαπλότητας εικόνων από το σύνολο των καταχωρημένων χρονικά διαδοχικών εικόνων της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού.

17. Το σύστημα των αξιώσεων 7 έως 14, το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι ή χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών της εξεταζόμενης περιοχής του ιστού, γίνεται

30 με βάση το αποτέλεσμα μαθηματικών πράξεων μεταξύ των τιμών των εικονοστοιχείων τα οποία ανήκουν σε μια πολλαπλότητα εικόνων από το

σύνολο των καταχωρημένων εικόνων σε χρονικά διαδοχικές στιγμές, της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού.

5 18. Το σύστημα των αξιώσεων 7 έως 17 το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι για την οπτικοποίηση της χαρτογράφησης του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών της εξεταζόμενης περιοχής του ιστού, χρησιμοποιείται κλίμακα ψευδοχρωμάτων η οποία αναπαριστά τις διαφορετικές τιμές των εικονοστοιχείων της εικόνας ή των εικόνων που χρησιμοποιούνται για την χαρτογράφηση.

10 19. Η μέθοδος και το σύστημα των αξιώσεων 1 έως 18, όπου η εικόνα ή οι εικόνες οι οποίες προσδιορίζονται για την χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται για την in vivo ανίχνευση, χαρτογράφηση, καθώς και τον προσδιορισμό των ορίων των παθολογικών αλλοιώσεων των επιθηλιακών ιστών.

15 20. Η μέθοδος και το σύστημα των αξιώσεων 1 έως 18, όπου οι τιμές των εικονοστοιχείων της εικόνας ή των εικόνων οι οποίες προσδιορίζονται για την χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών, χρησιμοποιούνται σαν διαγνωστικοί δείκτες για την in vivo ταυτοποίηση και την σταδιοποίηση των αλλοιώσεων των επιθηλιακών ιστών.

20 21. Η μέθοδος και το σύστημα των αξιώσεων 1 έως 20, όπου η εικόνα ή οι εικόνες οι οποίες προσδιορίζονται για την χαρτογράφηση του βαθμού αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών, μπορούν να υπερτίθενται της επιδεικνυόμενης στην οθόνη έγχρωμης ή  
25 ασπρόμαυρης εικόνας της ίδιας περιοχής του εξεταζόμενου ιστού έτσι ώστε να αναδεικνύεται και να οριοθετείται η αλλοιωμένη περιοχή του ιστού διευκολύνοντας την επιλογή αντιπροσωπευτικής περιοχής για την λήψη δείγματος βιοψίας, την επιλεκτική χειρουργική αφαίρεση της παθολογικής περιοχής και την επιβεβαίωση της ορθότητας της επιλογής του αφαιρεθέντος  
30 τμήματος του ιστού.

22. Η μέθοδος και το σύστημα των αξιώσεων 1 έως 21 όπου η εικόνα ή οι εικόνες οι οποίες προσδιορίζονται για την χαρτογράφηση του βαθμού

αλλοίωσης των βιοχημικών ή και των λειτουργικών χαρακτηριστικών, χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων θεραπευτικών σχημάτων όπως ακτινοθεραπείας, ραδιοθεραπείας, φαρμακοθεραπείας, χημειοθεραπείας.

5 23. Το σύστημα των αξιώσεων 7 έως 22 το οποίο χαρακτηρίζεται από το ότι, ως Οπτομηχανική διάταξη για την οπτική απεικόνιση της περιοχής ενδιαφέροντος του ιστού, χρησιμοποιούνται εξεταστικά, χειρουργικά μικροσκόπια, κολποσκόπια και ενδοσκόπια.

10 24. Το σύστημα των αξιώσεων 7-22 όπου το χρησιμοποιούμενο κολποσκόπιο αποτελείται από αρθρωτό βραχίονα επί του οποίου προσαρτάται η οπτική κεφαλή, αποτελούμενη από διαθλαστικό αντικειμενικό φακό, οπτικά εστίασης, μηχανισμό επιλογής μεγέθυνσης, προσοφθάλμιους φακούς, υποδοχή για την προσαρμογή κάμερας και συστήματος φωτισμού και χαρακτηρίζεται από το ότι ο κολποδιαστολέας προσαρμόζεται στον ίδιο  
15 βραχίονα με τα οπτικά του κολποσκοπίου, με τέτοιο τρόπο ώστε ο κεντρικός διαμήκης άξονας του κολποδιαστολέα να είναι κάθετος προς την κεντρική περιοχή του αντικειμενικού φακού, έτσι ώστε όταν εισέρχεται και στερεώνεται ο κολποδιαστολέας στον κόλπο, να εξασφαλίζεται η σταθερότητα της σχετικής θέσης των οπτικών συλλογής της εικόνας και της επιφάνειας της περιοχής  
20 ενδιαφέροντος, ανεξάρτητα από μικροκινήσεις του εξεταζόμενου.

25 25. Το σύστημα της αξίωσης 24 χαρακτηριζόμενο από το ότι προσαρτάται ψεκαστήρας της χρησιμοποιούμενης ουσίας σε σταθερό σημείο της διάταξης και εμπρός από το άνοιγμα του κόλπου, ενώ ο ψεκασμός του ιστού συγχρονίζεται με την διαδικασία έναρξης διαδοχικής χρονικά καταγραφής εικόνων μέσω ηλεκτρονικού ελέγχου.

26. Το σύστημα των αξιώσεων 1 έως 24 χαρακτηριζόμενο από το ότι χρησιμοποιείται κάμερα με ανάλυση μεγαλύτερη των 1000X1000 pixels σε οθόνη τουλάχιστον 17 ιντσών, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται ταυτόχρονα μεγάλη μεγέθυνση και μεγάλο οπτικό πεδίο.

30 27. Το σύστημα της αξίωσης 23 όπου το χρησιμοποιούμενο κολποσκόπιο ή εξεταστικό ή χειρουργικό μικροσκόπιο αποτελείται από αρθρωτό βραχίονα επί του οποίου προσαρτάται η οπτική κεφαλή, αποτελούμενη από διαθλαστικό

αντικειμενικό φακό, οπτικά εστίασης, μηχανισμό επιλογής μεγέθυνσης, προσοφθάλμιους φακούς, υποδοχή για την προσαρμογή κάμερας και συστήματος φωτισμού και χαρακτηρίζεται από το ότι φέρει δύο οπτικά μέσα γραμμικής πόλωσης του φωτός, προσαρτημένα το ένα σε σημείο κατά μήκος του οπτικού δρόμου μεταφοράς της δέσμης φωτισμού και το άλλο σε σημείο του οπτικού δρόμου συλλογής, μεταφοράς και σχηματισμού της εικόνας, με την δυνατότητα περιστροφής των επιπέδων πόλωσης των οπτικών αυτών, έτσι ώστε όταν αυτά γίνουν κάθετα μεταξύ τους, να ελαχιστοποιείται η συνεισφορά της επιφανειακής ανάκλασης του ιστού στην εικόνα που σχηματίζει το μικροσκόπιο.

28. Το σύστημα της αξίωσης 23 όπου το χρησιμοποιούμενο ενδοσκόπιο αποτελείται από οπτικές διατάξεις μεταφοράς φωτισμού και συλλογής μεταφοράς και σχηματισμού της εικόνας σε συνευθειακή διάταξη και χαρακτηρίζεται ότι φέρει δύο οπτικά μέσα γραμμικής πόλωσης του φωτός, προσαρτημένα το ένα στον οπτικό δρόμο του φωτισμού και το άλλο στον οπτικό δρόμο συλλογής, μεταφοράς και σχηματισμού της εικόνας, έτσι ώστε όταν τα επίπεδα πόλωσης περιστραφούν και γίνουν κάθετα μεταξύ τους, να ελαχιστοποιείται η συνεισφορά της επιφανειακής ανάκλασης του ιστού στην εικόνα που σχηματίζει το ενδοσκόπιο.

29. Το σύστημα των αξιώσεων 23, 24, 25, 27 όπου το χρησιμοποιούμενο κολποσκόπιο ή εξεταστικό ή χειρουργικό μικροσκόπιο, αποτελείται από αρθρωτό βραχίονα επί του οποίου προσαρτάται η οπτική κεφαλή αποτελούμενη από αντικειμενικό φακό, οπτικά εστίασης, μηχανισμό επιλογής μεγέθυνσης, προσοφθάλμιους φακούς, υποδοχή για την προσαρμογή κάμερας και συστήματος φωτισμού και χαρακτηρίζεται από το ότι ο αντικειμενικός φακός του είναι ανακλαστικός, από το κεντρικό μέρος του οποίου δεν διέρχονται ακτίνες φωτός, όντας το πίσω μέρος του καθρέφτη δεύτερης ανάκλασης και φέρει στο κεντρικό αυτό σημείο, προσαρτημένη διάταξη φωτισμού απ' όπου εκπέμπεται φως προς το αντικείμενο, έτσι ώστε με ή χωρίς οπτικά εστίασης της δέσμης φωτισμού να εξασφαλίζεται συνευθειακή γεωμετρία φωτισμού-απεικόνισης, και με την δυνατότητα τα οπτικά της εστίασης δέσμης, να ρυθμίζονται ταυτόχρονα με τον μηχανισμό



μεταβολής της μεγέθυνσης του οπτικού απεικονιστικού συστήματος, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται σταθερή φωτεινότητα της εικόνας ανεξάρτητα από την μεγέθυνση του οπτικού απεικονιστικού συστήματος.

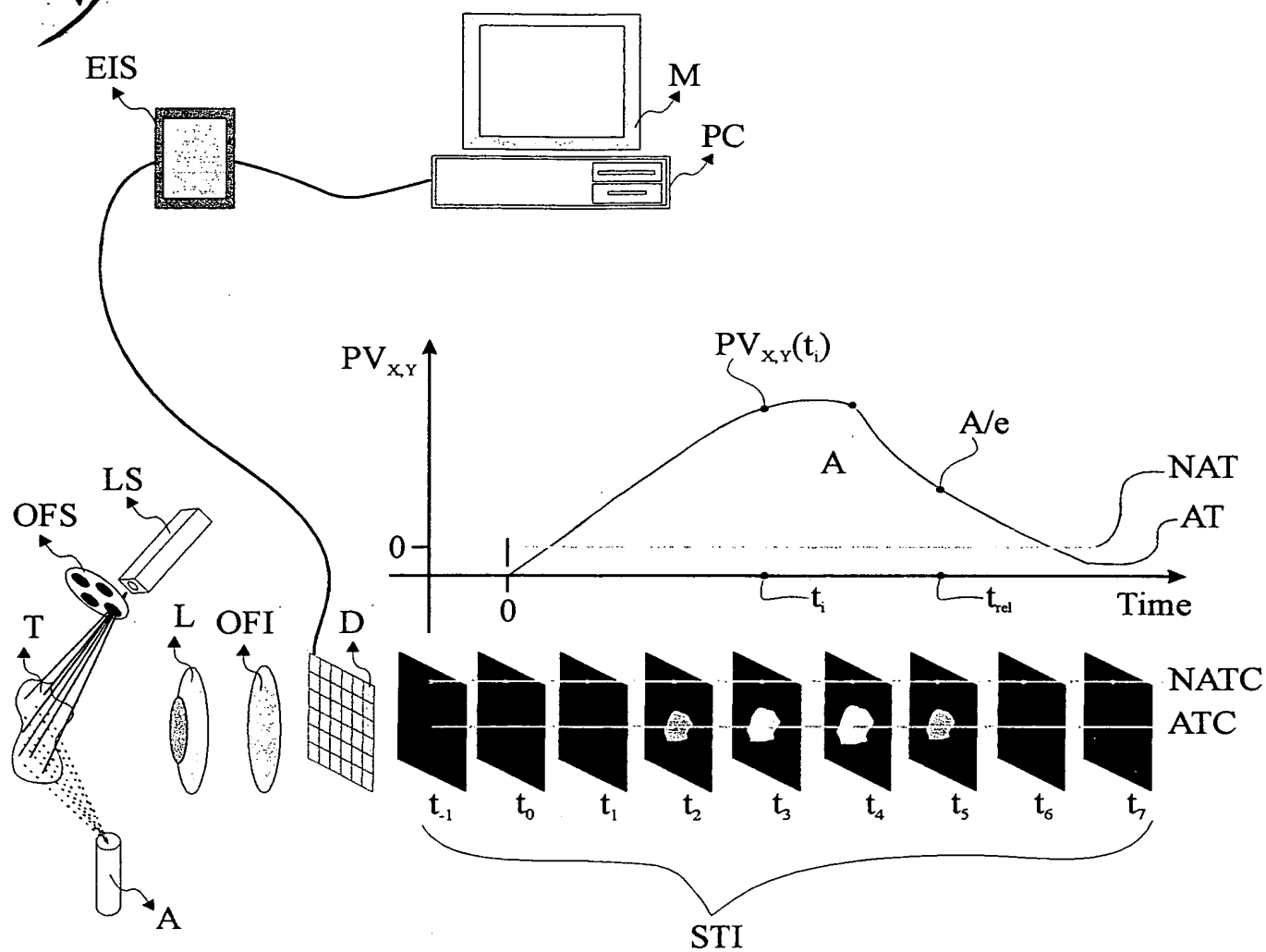
## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

5 Στην παρούσα εφεύρεση παρουσιάζεται μέθοδος και σύστημα για την  
in vivo ανίχνευση αλλοιώσεων στα βιοχημικά ή και στα λειτουργικά  
χαρακτηριστικά ιστών και την χαρτογράφηση του βαθμού της αλλοίωσης των  
χαρακτηριστικών αυτών. Η μέθοδος βασίζεται στην ταυτόχρονη μέτρηση των  
χωρικών, χρονικών και φασματικών μεταβολών στα χαρακτηριστικά του  
επανεκπεμπόμενου από τον εξεταζόμενο ιστό φως, οι οποίες προκαλούνται  
με τη συστηματική χορήγηση ή την τοπική εφαρμογή ειδικών ουσιών οι οποίες  
10 ενισχύουν την οπτική αντίθεση μεταξύ φυσιολογικού και παθολογικού ιστού.  
Το σύστημα παρέχει την δυνατότητα καταγραφής διαδοχικών χρονικά εικόνων  
σε μία ή περισσότερες φασματικές περιοχές, ενώ από την επεξεργασία των  
μετρητικών δεδομένων, υπολογίζονται παράμετροι οι οποίες εκφράζουν τα  
χαρακτηριστικά της κινητικής απόκρισης του ιστού σε κάθε χωρικό σημείο της  
15 υπό ανάλυση περιοχής. Η χαρτογράφηση και ο χαρακτηρισμός της  
αλλοίωσης βασίζονται στις παραμέτρους αυτές.

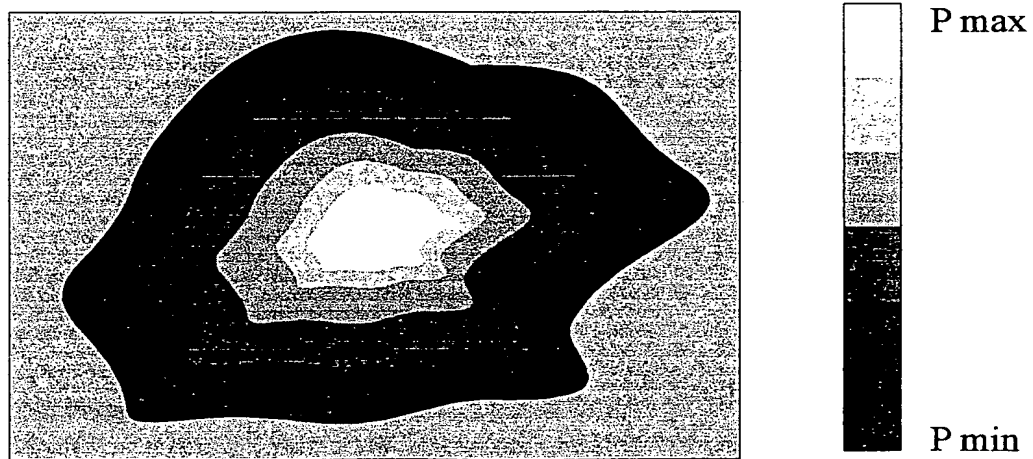
## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 5     [1] R.R. Richards-Kortum, M.F. Mitchell, N. Ramanujam, A. Mahadevan, S. Thomsen, "In vivo fluorescence spectroscopy: Potential for non-invasive, automated diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and use as a surrogate endpoint biomarker", *J. Cell. Biochem. (Suppl.)* vol. 19, pp. 111-119, 1994
- 10    [2] R.R. Alfano, D.B. Tata, J. Cordero, P. Tomashefsky, F.W. Longo, M.A. Alfano, "Laser induced fluorescence spectroscopy from native cancerous and normal tissue", *IEEE JQE*, Vol. 20 pp. 1507-1511, 1984
- [3] R. Richards-Kortum, R.P. Rava, M. Fitzmaurice, M.Sivak, M.S. Feld  
15    " Spectroscopic diagnosis of colonic dysplasia", *Photochem. Photobiol.*, vol. 53, pp. 777-786, 1991
- [4] K.T. Schomacker, J.K. Frisoli, C.C.Compton, T.J. Flotte, J.M. Richter, N.S. Nishioka, T.F. Deutsch, "Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: "Basic biology and diagnostic potential", *Lasers Surg. Med.*, vol 12, pp.63-78, 1992
- 20    [5] W.S. Glassman, C.H. Liu, G.C. Tang, S. Lubicz, R.R. Alfano, "Ultraviolet excited fluorescence spectra from non-malignant and malignant tissues of the gynecological tract", *Lasers Life Sci*, vol. 5, pp. 49-58, 1992
- [6] N. Ramanujam, M.F. Mitchell, A. Mahadevan-Jansen, S. Thomsen, G. Staerkel, A. Malpica, T. Wright, N. Atkison and R.R. Richards-Kortum,  
25    "Cervical precancer detection using a multivariate statistical algorithm based on laser-induced fluorescence spectra at multiple excitation wavelengths", *Photochem. and Photobiol.*, vol. 64(4), pp. 720-735, 1996.
- [7] Bigio and J. Mourant, 1997: "Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnostics: fluorescence spectroscopy and elastic-scattering spectroscopy" *Phys Med. Biol.* 42 pp. 803- 814.  
30
- [8] R. M. Shier, The colposcopy unit", *Obstetrics & Gynecology Clinics of N. America*, 40 (1), (1993), pp 55-58.
- [9] A. Mashberg, P. Barsa, Screening for oral and oropharyngeal squamous carcinoma, *CA Cancer J. Clin.*, Vol 34(5), 1984, pp. 262-268

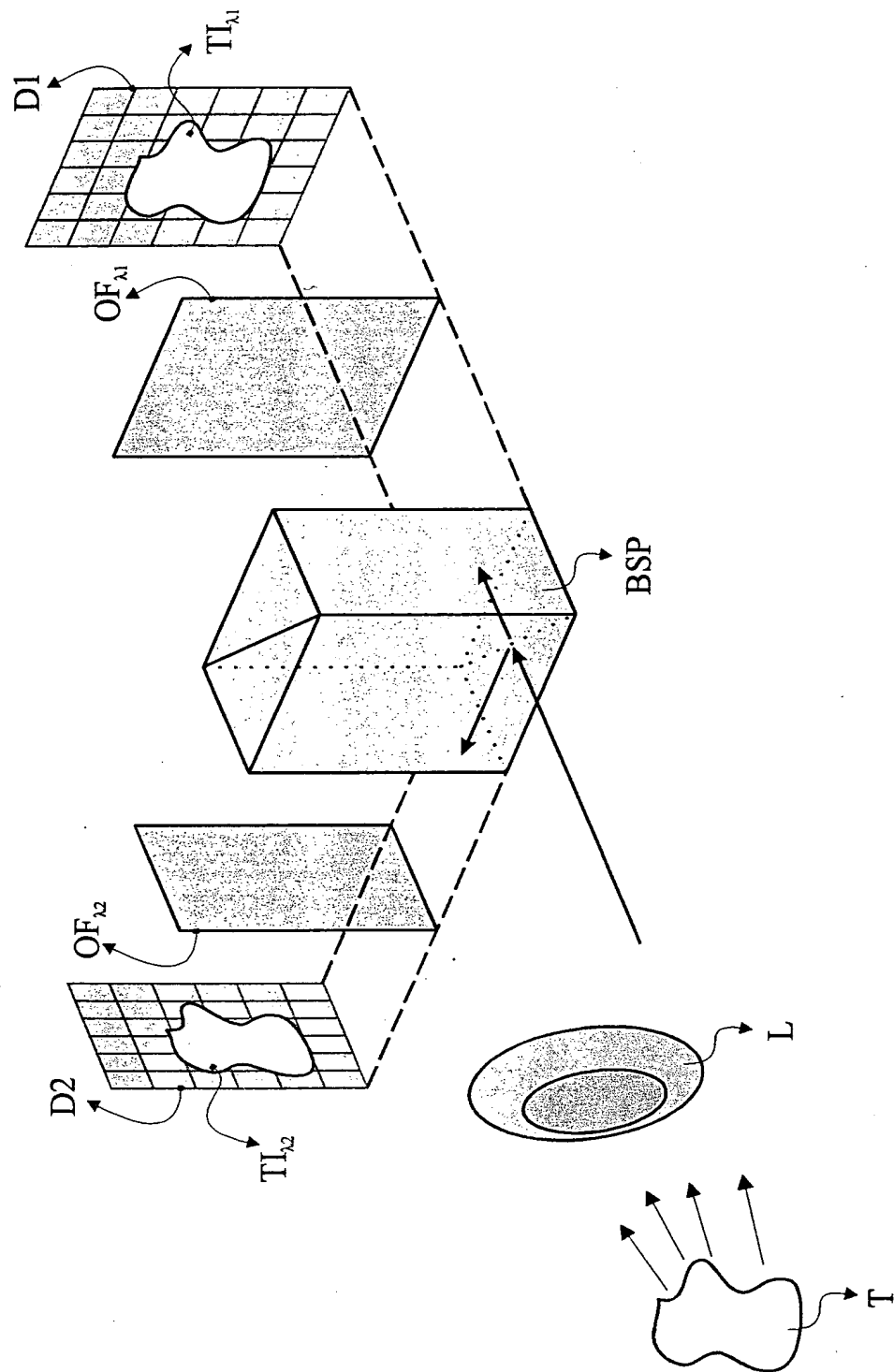
- [10] S. Anderson Engels, C. Klinteberg, K. Svanberg, S. Svanberg, In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostics, *Phys Med. Biol.* 42 (1997) 815-24
- [11] M. Anderson, J. Jordan, A. Morse, F. Sharp, *Integrated Colposcopy*, London: Chapman & Hall Medical, 1996.
- [12] C. Balas, A. Dimoka, E. Orfanoudaki, E. Koumandakis, "In vivo assessment of acetic acid-cervical tissue interaction using quantitative imaging of back-scattered light: Its potential use for the in vivo cervical cancer detection grading and mapping", *SPIE-Optical Biopsies and Microscopic Techniques*, Vol. 3568 pp. 31-37, (1998)
- [13] C. Balas, G. Themelis, E. Prokopakis, I. Orfanoudaki, E. Koumandakis, E. Helidonis, "In vivo detection and staging of epithelial dysplasias and malignancies based on the quantitative assessment of acetic acid-tissue interaction kinetics", *J. Photoch. Photob.*, vol. 53/1-3, pp. 153-157 Dec. 1999



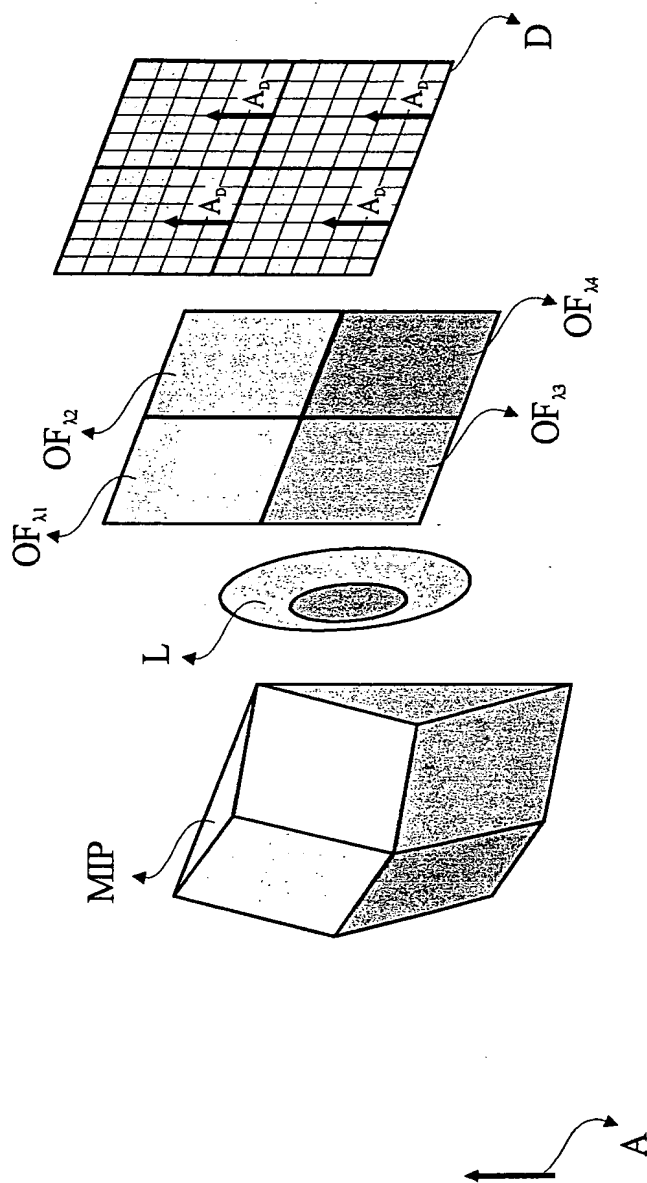
KI



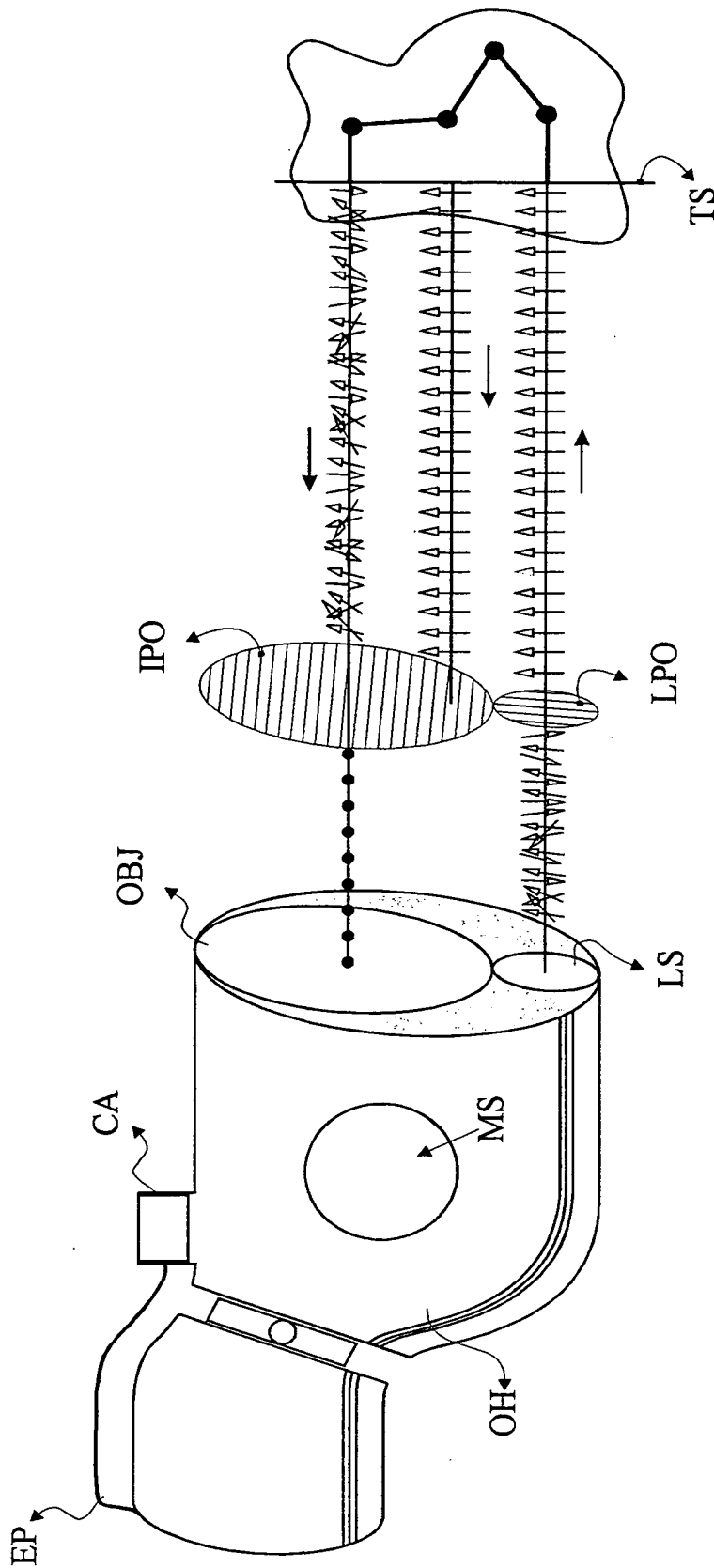
Σχήμα 1



Σχήμα 2

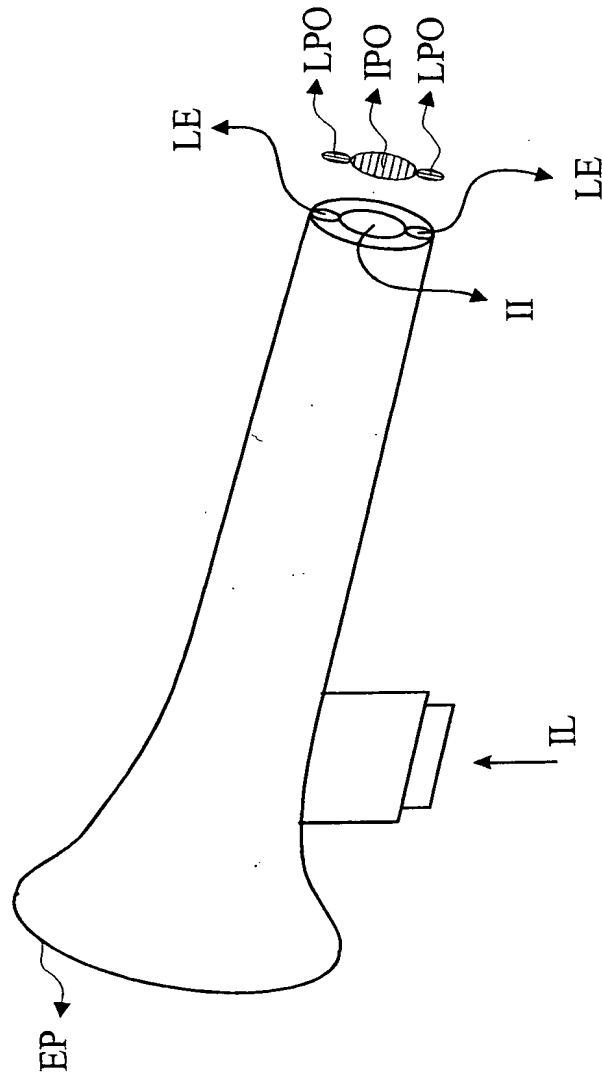


Σχήμα 3

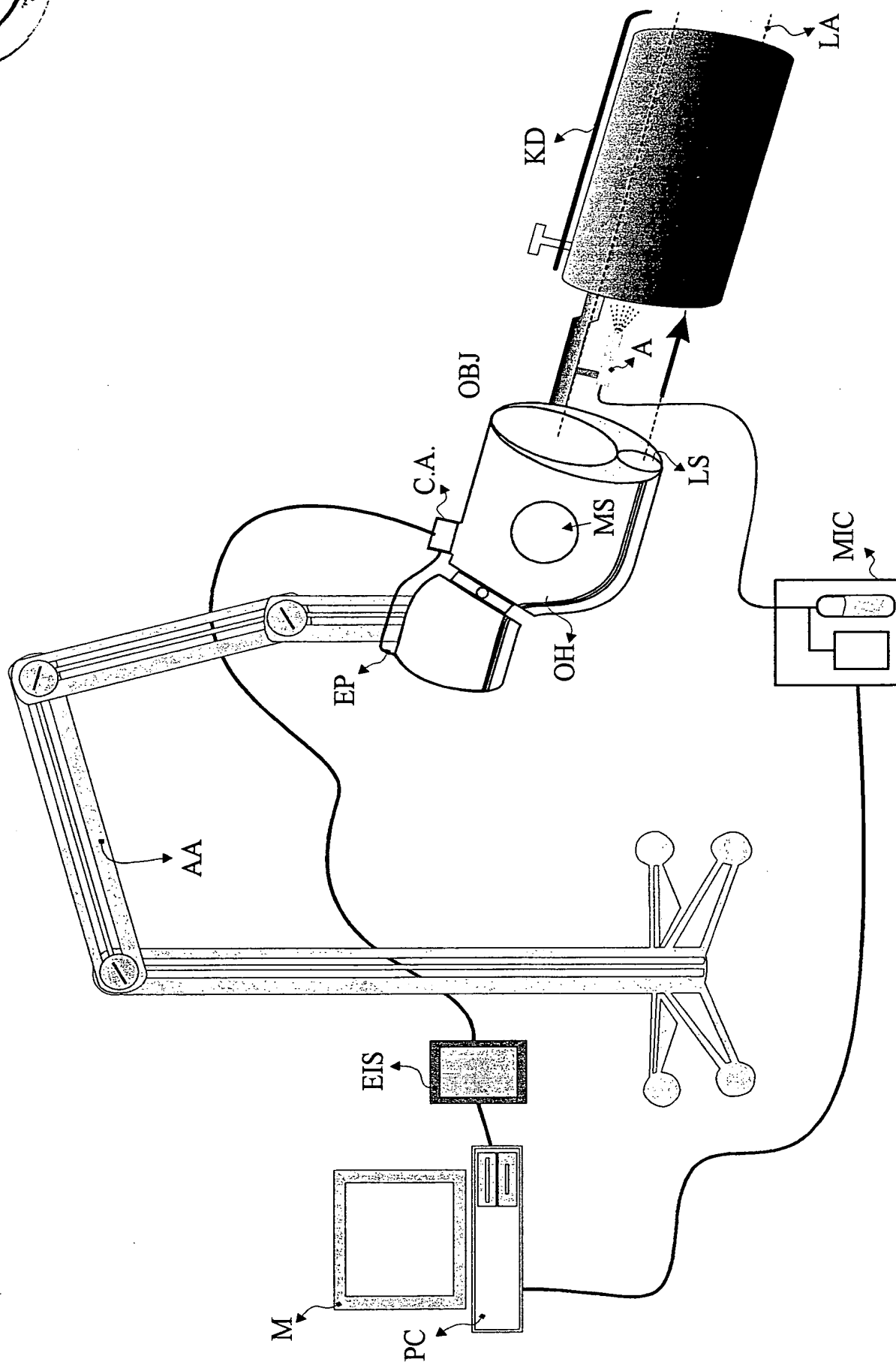


Σχήμα 4

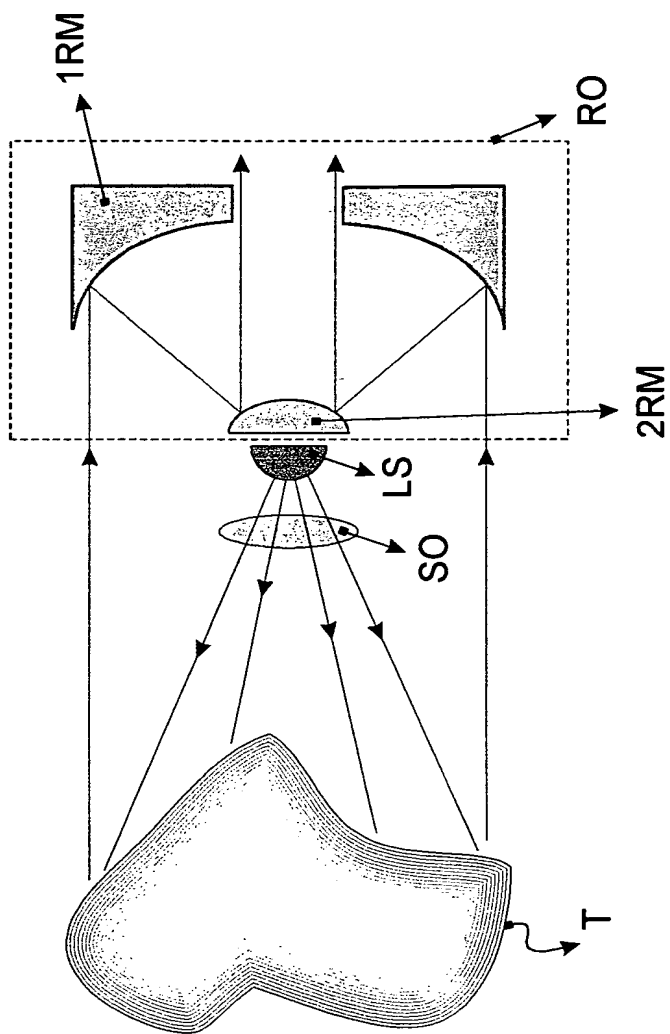
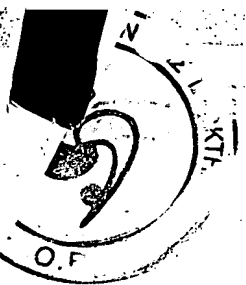




Σχήμα 5



Σχήμα 6



Σχήμα 7

## METHOD AND SYSTEM FOR CHARACTERIZATION AND MAPPING OF TISSUE LESIONS

The present invention refers to a method and apparatus for the in-vivo, non destructive detection and mapping of the biochemical and/or functional pathologic alterations of human tissues.

5 The invention is related to the field of non-invasive characterization and mapping of tissue lesions. Cancer precursors signs are the so called pre-cancerous states, which are curable if they are detected at an early stage. In the opposite case the lesion can progress in depth, resulting in the development of invasive cancer and metastases. At this stage, the possibilities of successful therapy are dramatically diminished.

10 Consequently, the early detection and the objective identification of the severity (stage) of the precancerous lesion are of crucial importance.

The conventional clinical process of optical examination have very limited capabilities in detecting cancerous and pre-cancerous tissue lesions. This is due to the fact that the structural and metabolic changes,

15 which take place during the development of the decease, do not significantly and with specificity alter the color characteristics of the pathological tissue.

In order to obtain more accurate diagnosis, biopsy samples are obtained from suspicious areas, which are submitted for histological

20 examination. However, biopsy sampling poses several problems, such as : a) risk for sampling errors associated with the visual limitations in detecting and localizing suspicious areas; b) biopsy can alter the natural history of the intraepithelial lesion; c) mapping and monitoring of the lesion require multiple tissue sampling, which is subjected to several

25 risks and limitations; d) the diagnostic procedure performed with biopsy sampling and histologic evaluation is qualitative, subjective, time consuming, costly and labor intensive.

In recent years there have been developed and presented quite a few new methods and systems in an effort to overcome the disadvantages of

the conventional diagnostic procedures. These methods can be classified in two categories: a) Methods which are based on the spectral analysis of tissues in vivo, in an attempt to improve the diagnostic information b) Methods which are based on the chemical excitation of  
5 tissues with the aid of special agents, which have the property to interact with pathologic tissue and to alter its optical characteristics selectively, thus enhancing the contrast between lesion and healthy tissue.

In the first case, the experimental use of spectroscopic techniques as a potential solutions to existing diagnostic problems, is motivated by their  
10 capability to detect alterations in the biochemical and/or the structural characteristics, which take place in the tissue during the development of the disease. In particular, fluorescence spectroscopy has been extensively used in various tissues, where the later are optically excited with the aid of a light source (usually laser), of short wave length (blue –  
15 ultraviolet range) and their response is measured as fluorescence intensity vs. wavelength.

Garfield and Glassman in Pat. No. US 5,450,857 and Ramanajum et al in Pat. No. US 5,421,339 have presented a method based on the use of fluorescence spectroscopy for the diagnosis of cancerous and pre-  
20 cancerous lesions of cervix. The main disadvantage of fluorescence spectroscopy is that the existing biochemical modifications associated with the progress of the disease are not manifested in a direct way as modifications in the measured fluorescence spectra. The fluorescence spectra contain limited diagnostic information of two basic reasons:

25 a) Tissues contain non-fluorescent chromophores, such as haemoglobin. Absorption by such chromophores of the emitted light from fluorophores can result in artificial dips and peaks in the fluorescence spectra. In other words the spectra carry convoluted information for several components and therefore it is difficult assess  
30 alterations in tissue features of diagnostic importance.

b) The spectra are broad due to the fact that a large number of tissue components are optically excited and contribute to the captured optical signal. As a result the spectra do not carry specific information for the

NIK F R KI  
AT L W  
TR 10  
5 REG. 0 22593

pathologic alterations and thus they are of limited diagnostic value.

The latter is expressed as low sensitivity and specificity in the detection and classification of tissue lesions.

5 Aiming to enhance the sensitivity and specificity of the captured information, Ramanujan et al in the Pat. No. WO 98/24369 have presented a method based on the use of neural networks for the analysis of the spectral data. This method is based on the training of a computing system with a large number of spectral patterns, which have been taken from normal and from pathologic tissues. The spectrum that  
10 is captured each time is compared with the stored spectral data, facilitating this way, the identification of the tissue pathology.

R.R. Kortun et al, in Pat. No. US 5,697,373, seeking to improve the captured diagnostic information, have presented a method based on the combination of fluorescence spectroscopy and Raman scattering. The  
15 last has the capability of providing more analytical information, it requires however complex instrumentation and ideal experimental conditions, which substantially hinder their clinical use.

It is generally known that tissues are characterized by the lack of spatial homogeneity and consequently the spectral analysis of distributed  
20 spatial points is insufficient for the characterization of their status.

Dombrowski in Pat. No. US 5,424,543, describes a multi-wavelength, imaging system, capable of capturing tissue images in several spectral bands. With the aid of such a system it is possible in general to map characteristics of diagnostic importance based on their particular  
25 spectral characteristics. However, due to the insignificance of the spectral differences between normal and pathologic tissue, which is in general the case, inspection in narrow spectral bands does not allow the highlighting of these characteristics and even more so, the identification and staging of the pathologic area.

30 D.R. Sandison et al, in Pat. No. US 5,920,399 describe an imaging system, developed for the in-vivo investigation of cells, which combines multi-band imaging and light excitation of the tissue. The system also employs a dual fiber optic bundle for the transferring of the emitted from

the source light onto the tissue and the remitted light from the tissue to the optical detector. These bundles are placed in contact with the tissue, and various wavelengths of excitation and imaging are combined in attempt to enhance the spectral differentiation between normal and pathologic tissue.

In Pat. No. US 5,921,926, J.R. Delfyett et al have presented a method for the diagnosis of diseases of the cervix, which is based on the combination of Spectral Interferometry and Optical Coherence Tomography (OCT). This system combines three-dimensional imaging and spectral analysis of the tissue.

Moreover, several improved versions of colposcopes have been presented, (D.R.Craigne et al, Pat. No. US 5,791,346 and K.L. Blaiz Pat. No. US 5,989,184) in most of which, electronic imaging systems have been integrated for image capturing, analysis of tissue images, including the quantitative assessment of lesion's size

For the enhancement of the optical differentiation between normal and pathologic tissue, special agents are used in various fields of biomedical diagnostics, which are administered topically or systematically. Such agents are acetic acid solution, toluidine blue, various photosensitizers (porphyrines) [10] etc. The provoked selective staining of the pathologic tissue is owed to the property of these agents to interact with the altered metabolic and structural characteristics of the pathologic area. This interaction enhances progressively and reversibly the differences in the spectral characteristics of reflection and/or fluorescence between normal and pathologic tissue. Despite the fact that the provoked selective staining of the pathologic tissue is a dynamic phenomenon, in clinical practice the intensity and the extent of the staining are assessed qualitatively and statically. Furthermore, in several cases of early pathologic conditions, the phenomenon of temporary staining after administering the agent, is short-lasting and thus the examiner is not able to detect the provoked alterations and even more so, to assess their intensity and extent. In other cases, the staining of the tissue progresses very slowly, with the consequence of patient discomfort and

creation of problems for the examiner in assessing the intensity and extent of the alterations, since they are continuously changing. The above have as direct consequence, the downgrading of the diagnostic value of these diagnostic procedures and thus its usefulness is limited to facilitate the localization of suspected areas for obtaining biopsy samples.

Summarizing the above mentioned, the following conclusions are drawn:

- a) Various conventional light dispersion spectroscopic techniques (fluorescence, elastic, non elastic scattering, etc) have been proposed and experimentally used for the in-vivo detection of alterations in the structural characteristics of pathologic tissue. The main disadvantage of these techniques is that they provide point information, which is inadequate for the analysis of the spatially non-homogenous tissue. Multi-band imaging has the potential to solve this problem, by providing spectral information (of lesser resolution as a rule) but in any spatial point of the area under examination. These techniques (imaging and non-imaging) however, provide information of limited diagnostic value, due to the fact that the structural tissue alterations, which are accompanying the development of the disease, are not manifested as significant and characteristic alterations on the measured spectra. Consequently, the captured spectral information cannot be directly correlated with the tissue pathology, a fact which limits the clinical usefulness of these techniques.
- b) The conventional (non-spectral) imaging techniques provide the capability of mapping characteristics of diagnostic importance in two or three dimensions. They are basically used for measuring morphological characteristics and as clinical documentation tools.
- c) The diagnostic methods which are based on the selective staining of pathologic tissue with special agents allows the enhancement of the optical contrast between normal and pathologic tissue. Nevertheless they provide limited information for the in vivo identification and staging of the disease.



Given the fact that the selective interaction of pathologic tissue with the agents, which enhance its optical contrast with healthy tissue is a dynamic phenomenon, it is reasonable to suggest that the capture and analysis of the characteristics of this phenomenon's kinetics, could  
5 provide important information for the in-vivo detection, identification and staging of tissue lesions. In a previous publication by one of the inventors [12], measurements of the alterations in the characteristics of the back-scattered light as a function of wave-length and time are presented. These alterations are provoked in the cervix by the topical  
10 administration of acetic acid solution. In this particular case, there was used as an experimental apparatus, a general-purpose multi-spectral imaging system builded around a tunable liquid crystal monochromator for measuring the variations in intensity of the back-scattered light as a function of time and wavelength in selected spatial points. It was found  
15 that the lineshapes of curves of intensity of back-scattered light versus time, provide advanced information for the direct identification and staging of tissue neoplasias. Unpublished results of the same research team support that similar results can also be obtained with other agents, which have the property of enhancing the optical contrast  
20 between normal and pathologic tissue. Nevertheless, the experimental method employed in the published paper is characterized by quite a few disadvantages, such as:

- 25 a) The imaging monochromator requires time for changing the imaging wavelength and as a consequence it is inappropriate for multispectral imaging and analysis of dynamic phenomena.
- b) It does not constitute a method for the mapping of the grade of the tissue lesions, as the presented curves illustrate the temporal alterations of intensity of the back-scattered light in selected points.
- c) The lack of data modeling and parametric analysis of the  
30 characteristics of the phenomenon kinetics in any spatial point of the area of interest restrict the usefulness of the method in experimental studies and hinder its clinical implementation.
- d) The optics used for the imaging of the area of interest are of general

purpose and are not comply with the special technical requirements for the clinical implementation of the method.

- 5 e) Clinical implementation of the presented system is also hindered by the fact that it does not integrate appropriate means for ensuring the stability of the relative position between the tissue surface and image capturing module, during the snapshot imaging procedure. This is very important since small movements of the patient (i.e. breathing) are always present during the examination procedure. If micro-movements are taking place during successive capturing of images, after application of the agent, then the spatial features of the captured images are not coincide. This reduces substantially the precision in the calculation of the curves in any spatial point, that express the kinetics of marker-tissue interaction.
- 10

The present invention refers to a method and system for the in-vivo, non-destructive detection and mapping of the biochemical and or functional alterations of tissue.

15

Drawing 1 presents the method's basic principle:

Upon selection of the appropriate agent which enhances the optical contrast between normal and pathologic tissue (depending on the tissue's pathology), this agent is administered topically or systematically.

20 In figure 1, the tissue (T), is sprayed using an atomizer (A), which contains the agent. At the same time, the tissue is illuminated with a source that emits light at a specific spectral band, depending on the optical characteristics of both agent and tissue. Illumination and selection of the spectral characteristics of the incident to the tissue light can be performed with the aid of a light source (LS) and a mechanism for selecting optical filters (OFS). Of course there are several other methods for illuminating the tissue and for selecting the spectral characteristics of the incident light (Light emission diodes, LASERS etc.)

25

30 For the imaging of the area of interest, light collection optics (L) are used, which focus the image onto a two-dimensional optical detector (D). The output signal of the latter is amplified, modulated and digitized with the aid of appropriate electronics (EIS) and finally the image is

displayed on a monitor (M) and stored in the data-storing means of a personal computer (PC). Between tissue (T) and detector (D), optical filters (OFI) can be interposed. The interposition of the filter can be performed for tissue (T) imaging in selected spectral bands, at which the maximum contrast is obtained between areas that are subjected to different grade of alterations in their optical characteristics, provoked after administering the appropriate agent.

Before administration of the latter, images can be captured and used as reference. After the agent has been administered, the detector (D), captures images of the tissue, in successive time instances, which are then stored in the computer's data-storage means. The capturing rate is proportional to the rate at which the tissue's optical characteristics are altered, following the administration of the agent.

In figure 1, images of the same tissue area are schematically illustrated, which have been stored successively before and after administering the agent (STI). In these images, the black areas represent tissue areas that do not alter their optical characteristics (NAT), while the gray-white tones represent areas which alter their optical characteristics (AT), following the administration of the agent. The simultaneous capture of the intensity of the light re-emitted from every spatial point of the tissue area under analysis and in predetermined time instances, allows the calculation of the kinetics of the provoked alterations.

In figure 1, two curves are illustrated: pixel value in position  $xy$  ( $Pv_{xy}$ ), versus time  $t$ . The curve ATC corresponds to an area where agent administration provoked alterations (AT) in the tissue's optical characteristics. The curve (NATC) corresponds to an area where no alteration took place (NAT).

The mathematical analysis of these curves, leads to the calculation of quantitative parameters for every pixel such as: The value  $Pv_{xy}$  that corresponds to the time  $t_i$ , the relaxation time  $t_{rel}$  which corresponds to the value  $Pv_{xy} = A/e$  (where  $e$  is the base of Neper logarithms), etc.

The calculation of these parameters (P) in every spatial point of the area under analysis, allows the calculation of the image or images of the

kinetics of the phenomenon (KI), with pixel values that are correlated with these parameters. These values can be represented with a scale of pseudocolors ( $P_{min}$ ,  $P_{max}$ ), the spatial distribution of which allows for immediate optical evaluation of the intensity and extent of the provoked alterations. Depending on the correlation degree between the intensity and the extent of the provoked alterations with the pathology and the stage of the tissue lesion, the measured quantitative data and the derived parameters would allow the mapping, the characterization and the border-lining of the lesion. The pseudocolor image of the phenomenon's kinetics (KI), which expresses the spatial distribution of one or more parameters, can be overlaid (after being calculated) on the tissue image, which is displayed in real-time on the monitor. The using the overlaid image as a guide, facilitates substantially the determination of the lesion's boundaries, for successful surgical removal of the entire lesion, or for locating suspicious areas in order to obtain a biopsy sample(s). Furthermore, based on the correlation of the phenomenon's kinetics with the pathology of the tissue, the measured quantitative data and the parameters that derive from them, can constitute quantitative clinical indices for the in-vivo staging of the lesion or of subareas of the latter.

In some cases it is necessary to capture the kinetics of the phenomenon in more than one spectral band. This can serve in the in vivo determination of illumination and/or imaging spectral bands at which the maximum diagnostic signal is obtained. Furthermore, the simultaneous imaging in more than one spectral bands can assist in minimizing the contribution of the unwanted endogenous scattering, fluorescence and reflection of the tissue, to the optical signal captured by the detector. The captured optical signal comprise the optical signal generated by the marker-tissue interaction and the light emitted from the endogenous components of the tissue. In many cases the recorded response of the components of the tissue constitute noise, since it occludes the generated optical signal, which carries the diagnostic information. Therefore, separation of these signals, based on their particular spectral

characteristics, will result in the maximization of the signal-to-noise ratio and consequently in the improvement of the obtained diagnostic information.

Figure 2, illustrates a method for capturing in two spectral bands simultaneously and in any spatial point of the area under analysis, the kinetics of the alterations in the characteristics of the remitted from the tissue light, before and the after the administration of the contrast enhancing agent. The remitted from the tissue light, is collected and focused by the optical imaging module (L) and passes through a beam splitting (BSP) optical element. Thus, two identical images of the tissue (T) are generated, which can be captured by two detectors (D1, D2). In front of the detector, appropriate optical filters ( $Of_{\lambda 1}$ ), ( $Of_{\lambda 2}$ ) can be placed, so that images with different spectral characteristics are captured. Besides beam splitters, optical filters, dichroic mirrors etc, can also be used for splitting the image of the object. The detectors (D1), (D2) are synchronized so that they capture simultaneously the corresponding spectral images of the tissue ( $Ti_{\lambda 1}$ ), ( $Ti_{\lambda 2}$ ) and in successive time-intervals, which are stored in the computer's data storage means.

Generalizing, multiple spectral images can be captured simultaneously by combining multiple splitting elements, filters and sources.

Figure 3 illustrates another method for capturing in different spectral bands simultaneously and in any spatial point of the area under analysis, the kinetics of the alterations in the characteristics of the remitted from the tissue light, before and the after the administration of the contrast enhancing agent. With the aid of a special prism (MIP) and imaging optics, it is possible to form multiple copies of the same image onto the surface of the same detector (D). Various optical filters ( $Of_{\lambda 1}$ ), ( $Of_{\lambda 2}$ ), ( $Of_{\lambda 3}$ ), ( $Of_{\lambda 4}$ ), can be interposed along the length of the optical path of the rays that form the copies of the object's image, so that the captured multiple images correspond to different spectral areas.

For the clinical use of the method, the different implementations of image capturing module described above can be integrated to

conventional optical imaging diagnostic devices. Such devices are the various medical microscopes, colposcopes and endoscopes, which are routinely used for the in-vivo diagnostic inspection of tissues. Imaging of internal tissues of the human body requires in most cases the illumination and imaging rays to travel along the same optical path, through the cavities of the body. Due to this fact, in the common optical diagnostic devices the tissue's surface reflection contributes substantially in the formed image. This limits the imaging information for the subsurface characteristics, which are in general of great diagnostic importance. This problem becomes more serious especially in epithelial tissues such as the cervix, larynx, oral cavity etc, which are covered by fluids such as mucus and saliva. Surface reflection also obstructs the detection and the measurement of the alterations in the tissue's optical properties, provoked after the administration of agents which enhance the optical contrast between normal and pathologic tissue. More specifically, when a special agent alters selectively the scattering characteristics of the pathologic tissue, the strong surface reflection that takes place in both pathologic (agent responsive) and normal (agent non responsive) tissue areas, occludes the diagnostic signal that originates from the interaction of the agent with the subsurface features of the tissue. In other words, surface reflection constitutes optical noise in the diagnostic signal degrading substantially the perceived contrast between agent responsive and agent non responsive tissue areas.

Based on the above, the effective integration of the method to imaging diagnostic devices, requires embodiments of appropriate optics that ensure the elimination of the contribution of surface reflection to the captured image. Figure 4 illustrates a schematic diagram of a medical microscope consisted from a light source (LS), a magnification selection mechanism (MS), an eyepiece (EP) and a mount for attaching the image capturing module (CA), (detector(s), readout electronics etc). For the elimination of the surface reflection a pair of linear polarizers is employed. The incident to the tissue light (LS), is linearly polarized by passing through a linear polarizer (LPO). The surface reflected light (TS),

has the same polarization plane with the incident to the tissue light (Fresnel reflection). By interposing the other linear polarizer to the optical path of the rays that are remitted from the tissue and form the optical image of the object, with its polarization plane perpendicular to the polarization level of the incident to the tissue light (IPO), the contribution of the surface reflection to the image of the object is eliminated. The light which is not surface-reflected enters the tissue, where due to multiple scattering, light polarization is randomized. Thus, a portion of the re-emitted light passes through the imaging polarization optics, carrying improved information for the subsurface features.

Figure 5 illustrates an endoscope consisted of an eyepiece (EP), which can be adapted to an electronic imaging system, optical fibers or crystals for the transmission of both illumination and image rays, optics for the linear polarization of light, one interposed to the optical path of the illumination rays (LE) and one to the path of the ray that form the optical image of the tissue (II). The polarization plane of the polarizing optics, which are adapted to the exit of light from the endoscope (LPO), is perpendicular to the polarization plane of the polarizer, which is adapted to the point where the light enters the endoscope (IL). The polarization optics of the incident to the tissue light could also be adapted at the point where the light enters the endoscope (IL) but in this case, the endoscope has to be constructed using polarization preserving crystals or fiber optics for transferring the light. If polarization preserving light transmission media are used, then the polarizing optics of the imaging rays can be interposed in their path and before or after the eyepiece (EP).

A serious problem for the effective clinical implementation of the described method herein is the micro-movements of the patient, which are always present during the snapshot imaging of the same tissue area. Obviously this problem is eliminated in case that the patient is under anesthesia (open surgery). In most cases however the movements of the tissue relative to the image capturing module, occurring during the successive image capturing time-course, have the

IKIFORAK  
AT LAW  
108 82 ATHENS  
5 REG. NO 22593

consequence that the image pixels, with the same image coordinates, do not correspond to exactly the same spatial point  $x,y$  of the tissue area under examination.

5 This problem is typically encountered in colposcopy. A method to eliminate the influence to the measured temporal data of the relative movements between tissue and image capturing module is presented below. A colposcopic apparatus is illustrated in figure 6, consisted of an articulated arm (AA), onto which the optical head (OH) is affixed, which includes a light source (LS), an objective lens (OBJ), an eye-piece (EP)  
10 and optics for selecting the magnification (MS). The image capturing module is attached to the optical head (OH), through an opto-mechanical adapter. A speculum (KD), which is used to open-up the vaginal canal for the visualization of the cervix, is connected mechanically with the optical head (OH), so that the its longitudinal  
15 symmetry axis (LA), to be perpendicular to the central area of the objective lens (OBJ). The speculum enters the vagina and its blades are opened up compressing the side walls of the vagina. The Speculum (KD), been mechanically connected with the optical head (OH), transfer any micromovement of the patient to the optical head (OH), which been  
20 mounted on an articulated arm (AA), follows these movements. Thus the relative position between tissue and optical head remains almost constant.

An important issue that must also be addressed for the successful clinical implementation of the diagnostic method described herein, is the  
25 synchronization of the application of the contrast enhancing agent with the initiation of the snapshot imaging procedure.

Figure 6, illustrates an atomizer (A) attached to the optical head of the microscope. The unit (MIC) is comprised of electronics for controlling the agent sprayer and it can incorporate also the container for storing the  
30 agent. When the unit (MIC) receives the proper command from the computer it sprays a predetermined amount of the agent onto the tissue surface, while the same or another command initiates the snapshot image capturing procedure.



The diagnostic examination of non-directly accesible tissues, located in cavities of the human body (ear, cervix, oral cavity etc.), is performed with the aid of common clinical microscopes. In these devises the illumination-imaging rays are near co-axial. More specifically, the line perpendicular to the exit point of light into the air, and the line perpendicular to the objective lens, form an angle of a few degrees. Due to this fact, these microscopes operate at a specific distance from the subject (working distance), in which the illuminated tissue area, coincides with the field-of-view of the imaging system. These microscopes are found to be inappropriate in cases where tissue imaging through human body cavities of small diameter and at short working distances, is required. These technical limitations are also constituting serious restricting factors for the successful clinical implementation of the method described herein. As it has been discussed above, elimination of surface reflection results in a substantial improvement of the diagnostic information, obtained from the quantitative assessment of marker-tissue interaction kinetics. If a common clinical microscope is employed as the optical imaging module, then due the above mentioned Illumination-imaging geometry, multiple reflections are occurring in the walls of the cavity, before the light reaches the tissue under analysis. In the case of colposcopy, multiple reflections are much more intense, since they are mainly taking place onto highly reflective blades of the speculum. Recall that the latter is inserted into the vagina to facilitate the inspection of cervix. If the illuminator of the imaging apparatus emits linearly polarized light, the multiple reflections are randomizing the polarization plane of the incident light. And as it has been discussed above, if the incident to the tissue under analysis light is not linearly polarized, then the elimination of the contribution of the surface reflection to the captured image can not be effective.

Figure 7 illustrates an optical imaging apparatus which embodies an light source located at the central part of its front-aperture. With this arrangement, the central ray of the emitted light cone is coaxial, with the

NIKIFOR  
AT LAV  
FR. 106 82 A  
65 REG. NO 22553

central ray of the light beam that enters the imaging apparatus. This enables illumination rays to reach directly the tissue surface under examination and not after multiple reflections in the wall of the cavity.

A reflective-objective lens is used, consisted at least of a first reflection (1RM) and a second reflection (2RM) mirror, where at the rear part of the first reflection mirror (2RM), a light source (LS) is attached together (if required) with optics for light beam manipulation such as zooming and focusing (SO). The reflective objective lens (RO), by replacing the common refractive-objective, which is used in conventional  
10 microscopes, provides imaging capability in cavities of small diameter, with freedom in choosing the working distance. The zooming and focusing optics of the light beam can be adjusted simultaneously with the mechanism for varying the magnification of the optical imaging system, so that the illumination area and the field-of-view of the imaging  
15 system, are varying simultaneously and proportionally. This has as a result, the preservation of image brightness regardless of the magnification level of the lens. The imaging-illumination geometry embodied in this optical imaging apparatus among with the light beam manipulation options, enable the efficient elimination of the contribution  
20 of the surface reflection to the captured image and consequently the efficient clinical implementation of the method described herein.

CLAIMS

1. A non-destructive method for the in-vivo early detection of alterations and mapping of the grade of these alterations, caused in the biochemical and/or in the functional characteristics of epithelial tissues, during the development of tissue atypias, dysplasias, neoplasias and cancers, which includes:
- a) Exposing the tissue area of interest, to broad band optical radiation
  - b) Administering an agent or a combination of agents which interact with pathologic tissue areas, characterized by altered biochemical composition and/or cellular functionality and provoke a transient alteration in the characteristics of the light that is re-emitted from the tissue, which may be reflection, diffuse scattering, and fluorescence or combinations of them.
  - c) Measuring simultaneously the intensity of the light emitted from the tissue, in every spatial point of the tissue area of interest, in a given instance of time and for a plurality of time instances, for the duration of agent-tissue interaction (chemical excitation) and tissue illumination (optical excitation),
- characterized by the in vivo determination of the grade of alterations in the biochemical and/or the functional characteristics in every spatial point of tissue area under examination, based on the quantitative assessment of the spatial distribution of alterations in the characteristics of the light re-emitted from the tissue in given time instances, before and after the optical and chemical excitation of the tissue and/or based on the quantitative assessment of the spatial distribution of parameters, calculated from the characteristic curves that express the kinetics of the provoked alterations in the characteristics of the light re-emitted from the tissue, which characteristic curves are simultaneously measured in every spatial point of the area under examination during the optical and chemical excitation of tissue.

NIKIFOR  
AT LAW  
R. 106 82 AT S  
65 REG. NO 22553

2 The method of claim 1, where the step of agent administration in the case of cervical epithelium comprises topical application of acetic acid solution and alternatively a solution or combination of solutions chosen from a plurality of acidic and basic solutions, which are provoking transient alterations in the scattering properties of the abnormal epithelium.

3 The method of claim 1, where the step of agent administration in other than cervix epithelial tissues (e.g. larynx, oral cavity, skin) comprises topical application of acetic acid solution and alternatively a solution or combination of solutions chosen from a plurality of acidic and basic solutions, which are provoking transient alterations in the scattering properties of the abnormal epithelium.

4 The method of claims 1, 2 & 3, where the step of tissue illumination comprises exposing the tissue area under analysis to optical radiation of narrower spectral width than the spectral width of the light emitted by the illumination source.

5 The method of claims 1,2 and 3, where the step of measuring the intensity of light comprises measuring the intensity of the re-emitted light in a spectral band, the spectral width of which is narrower than the spectral width of the detector's sensitivity.

6 The method of claims 1,2 and 3, where the step of measuring the intensity of light comprises measuring simultaneously the intensity of the re-emitted light in a plurality of spectral band, the spectral widths of which are narrower than the spectral width of the detector's sensitivity.

7 An apparatus for the in-vivo, non-destructive early detection of alterations and mapping of the grade of these alterations, caused in the biochemical and/or in the functional characteristics of epithelial tissues, during the development of tissue atypias, dysplasias, neoplasias and cancers, which includes:

- a. Optics for collecting the light re-emitted by the area under analysis, selecting magnification and focusing the image of the area;
- b. Optical imaging detector(s);

NIKIFOR  
Y AT LAW  
STR. 106.82-A  
3665 REG. NO. 223

- Means for the modulation, transfer, display and capturing of the image of the tissue area of interest;
- d. Computer which includes data storage, processing and analysis means;
  - 5 e. Monitor for displaying images, curves and numerical data;
  - f. Optics for the optical multiplication of the image of the tissue area of interest;
  - g. Light source for illuminating the area of interest;
  - h. Optical filters for selecting the spectral band of imaging and illumination;
  - 10 i. Means for transmitting light and illuminating the area of interest;
  - j. Control electronics;
  - k. Software for the analysis and processing of data, which also enables the tissue image capturing and storing in specific time instances and for a plurality of time instances, before and after administering an agent or a combination of agents which have the property to alter the optical characteristics of atypical and pathological tissue areas,
  - 15
  - 20 characterized by the determination of an image or of images which express the spatial distribution of the characteristics of the kinetics of the provoked changes in the tissue's optical characteristics, before and after administering the agent, with pixel values corresponding with the spatial distribution of the alterations in the intensity of the light emitted from the tissue, in given time instances, before and after
  - 25 the optical and chemical excitation of tissue and/or with the spatial distribution of parameters derived from the function: pixel gray value versus time, which is calculated from the captured and stored images and for each row of pixels with the same spatial coordinates, the storing and display of the image or images of that express the
  - 30 kinetics of the provoked alterations in the tissue's optical characteristics before and after administering the agent and the mapping of tissue areas with alterations of different type and grade, based on the pixel values of the image or images that express the

kinetics of the phenomenon.

- 8 The apparatus of claim 7, where the step of optical filtering the  
imaging detector comprises an optical filter that is placed in the  
optical path of the rays that form the image of the tissue, for the  
5 recording of temporally successive images in a selected spectral  
band, the spectral width of which is narrower than the spectral width  
of the detector's sensitivity.
- 9 The apparatus of claim 7, where the image multiplication optics  
comprise light beam splitting optics that create two identical images  
10 of the area of interest, which are recorded by two imaging detectors,  
in front of which optical filters are placed, with in general different  
transmission characteristics and capable of transmitting light of  
spectral width shorter than the spectral width of the detector's  
sensitivity, so that two groups of temporally successive images of the  
15 same tissue area are recorded simultaneously, each one  
corresponding to a different spectral band.
- 10 The apparatus of claim 7, where the image multiplication optics  
comprise more than one beam splitter, for the creation of multiple  
identical images of the area of interest, which are recorded by  
20 multiple imaging detectors, in front of which optical filters are placed,  
with in general different transmission characteristics and capable of  
transmitting light of spectral width shorter than the spectral width of  
the detector's sensitivity, so that multiple groups of temporally  
successive images of the same tissue area are recorded  
25 simultaneously, each one corresponding to a different spectral band.
- 11 The apparatus of claim 7, where the image multiplication optics  
comprise one beam splitter, for the creation of multiple identical  
images of the area of interest, which are recorded by multiple  
imaging detectors, in front of which optical filters are placed, with in  
30 general different transmission characteristics and capable of  
transmitting light of spectral width shorter than the spectral width of  
the detector's sensitivity, so that multiple groups of temporally  
successive images of the same tissue area are recorded

simultaneously, each one corresponding to a different spectral band.

12 The apparatus of claim 7, where the image multiplication optics  
comprise one beam splitter, for the creation of multiple identical  
images of the area of interest, which are recorded in different sub-  
5 areas of the same detector, and in front these areas optical filters are  
placed, with in general different transmission characteristics and  
capable of transmitting light of spectral width shorter than the spectral  
width of the detector's sensitivity, so that multiple groups of temporal-  
ly successive images of the same tissue area are recorded simulta-  
10 neously in the different areas of the detector, each one corresponding  
to a different spectral band.

13 The apparatus of claim 7, where the step of filtering the light source  
comprises an optical filter, which is placed in the optical path of  
illumination light beam, and transmits light of spectral width shorter  
15 than the spectral width of sensitivity of the detector used.

14 The apparatus of claim 7, where the step of filtering the light source  
comprises a plurality of optical filters and mechanism for selecting  
the filter that it is interposed to the tissue illumination optical path,  
thus enabling the tuning the center wavelength and the spectral  
20 width of the light illuminating the tissue.

15 The apparatus of claims 7 through 14, where the mapping of the  
grade of the alterations to the biochemical and/or functional  
characteristics of the tissue area of interest, is based on the pixel  
values of one image, from the group of the recorded temporally  
25 successive images of the tissue area of interest.

16 The apparatus of claims 7 through 14, where the mapping of the  
grade of the alterations to the biochemical and/or functional  
characteristics of the tissue area of interest, is based on the pixel  
values belonging to plurality of images, which are members the  
30 group of the recorded temporally successive images of the tissue  
area of interest.

17 The apparatus of claims 7 through 14, where the mapping of the  
grade of the alterations to the biochemical and / or functional

NIKIFOR  
Y AT LAI  
STR. 106 82  
665 REG. NO 22333

characteristics of the tissue area of interest, is based on numerical data derived from mathematical operations and calculations between the pixel values belonging a plurality of images, which are members of the group of the recorded temporally successive of the tissue area of interest.

18 The apparatus of claims 7 through 17, where a pseudo-color scale, which represents with different colors the different pixel values of the image or of the images used for the mapping of abnormal tissue areas, is used for the visualization of the mapping of the grade of the alterations to the biochemical and / or functional characteristics of the tissue area under examination.

19 The method and the apparatus of claims 1 through 18, where the image or images which are determined for the mapping of the grade of the alterations in biochemical and/or functional characteristics of tissue, are used for the in-vivo detection, mapping, as well as for the determination of the borders of epithelial lesions.

20 The method and apparatus of claims 1 through 18, where the pixel values of the image or of the images which are determined for the mapping of the grade of alterations in biochemical and/or functional characteristics of tissue, are used as diagnostic indices for the in-vivo identification and staging of epithelial lesions.

21 The method and the apparatus of claims 1 through 20, where the image or the images which are determined for the mapping of the grade of the alterations in biochemical and / or functional characteristics of tissue can be overlaid onto the color or black and white image of the same area of tissue under examination displayed on the monitor, so that abnormal tissue areas are highlighted and their borders are demarcated, facilitating the selection of a representative area for taking a biopsy sample, the selective surgical removal of the abnormal area and the evaluation of the accuracy in selecting and removing the appropriate section of the tissue.

22 The method and the apparatus of claims 1 through 21, where the



- image or the images which are determined for the mapping of the grade of alterations in biochemical and/or functional characteristics of tissue are used for the evaluation of the effectiveness of various therapeutic modalities such as radiotherapy, nuclear medicine treatments, pharmacological therapy, chemotherapy.
- 23 The system of claims 7 through 22, where the optics for collecting the light re-emitted by the area under analysis, comprises the optomechanical components employed in microscopes used in clinical diagnostic examinations, surgical microscopes, colposcopes and endoscopes.
- 24 The apparatus of claims 7 through 22, which in case of colposcopy comprise, a speculum, an articulated arm onto which the optical head is attached, which optical head is consisted of a refractive objective lens, focusing optics, mechanism for selecting the magnification, eyepiece, mount for attaching camera, and illuminator, where the speculum is attached in fixed location onto the system articulated arm-optical head, in such a way that the central longitudinal axis of the speculum is perpendicular to the central area of the objective lens, so that when the speculum is inserted into the vagina and fixed in it, the relative position of the image-capturing optics and of the tissue area of interest remains unaltered, regardless of micro-movements of the cervix, which are taking place during the examination of the woman.
- 25 The apparatus of claim 24 additionally comprising an atomizer of the agent used, where the atomizer is attached in a fixed point onto the system articulated arm-optical head of the apparatus and in front of the vaginal opening, while the spraying of the tissue may be controlled and synchronized with temporally successive image capturing procedure, with the aid of electronic control means.
- 26 The apparatus of claims 7 through 25, where the image capturing detector means and image display means comprise camera system with detector spatial resolution greater than 1000 X1000 pixels and monitor of at least 17 inches (diagonal), so that high magnification is

S. NIKIFOR  
Y AT LAW  
STR. 106 82 AT  
665 REG. NO. 22000

ensured together with a large field of view, while the image quality is maintained.

27 The apparatus of claim 23 which in case of microscopes used in clinical diagnostic examinations, surgical microscopes and colposcopes, comprise an articulated arm onto which the optical head is attached, which optical head is consisted of an objective lens, focusing optics, mechanism for selecting the magnification, eyepiece, mount for attaching camera, illuminator and two linear polarizers, where the two linear polarizers are attached, one at a point along the optical path of the illuminating light beam and the other at a point along the optical path of the rays that form the image of the tissue, with the capability of rotating the polarization planes of these light polarizing optical elements, so that when these planes are perpendicular to each other, the contribution of the tissue's surface reflection to the formed image is eliminated.

28 The system of claim 23, which in case of endoscopy the endoscope comprise optical means for transferring light from the light source onto the tissue surface and for collecting, and for transferring along almost the same axis and focusing the rays that form the image of the tissue, and two linear polarizers, where the two linear polarizers are attached, one at a point along the optical path of the illuminating light beam and the other at a point along the optical path of the rays that form the image of the tissue, with the capability of rotating the polarization planes of these light polarizing optical elements, so that when these planes are perpendicular to each other, the contribution of the tissue's surface reflection to the formed by the endoscope image is eliminated.

29 The system of claims 23, 24, 25, 27 which in case of microscopes used in clinical diagnostic examinations, surgical microscopes and colposcopes, additionally comprise a reflective objective lens, where the reflective objective replaces the refractive one, which reflective objective is devised so that in the central part of its optical front aperture the second reflection mirror is located, and in

5. NIKIFOR  
KEY AT LAV  
STR. 106.82  
8665 REG. No. 2

- the rear part (non-reflective) of this mirror, illumination means are attached from which light is emitted toward the object, so that with or without illumination beam zooming and focusing optics the central ray of the emitted light cone is coaxial, with the central ray of the light beam that enters the imaging lens, and with the aid of zooming and focusing optics of illumination beam that may be adjusted simultaneously and automatically with the mechanism for varying the magnification of the optical imaging system, the illuminated area and the field-of-view of the imaging system, are varying simultaneously and proportionally, so that any decrease in image brightness caused by increasing the magnification, is compensated with the simultaneous zooming and focusing of the illumination beam.

NIKIFOR  
AT LAW  
R. 10682 AT  
35 REG. NO 22333

## SUMMARY

In the present invention a method and an apparatus for the in-vivo, non-destructive, early detection of alterations and mapping of the grade of these alterations, caused in the biochemical and / or in the functional characteristics of epithelial tissues during the development of tissue atypias, dysplasias, neoplasias and cancers. The method relays on simultaneous measurement of the spatial, temporal and spectral alterations in the characteristics of the light that is re-emitted from the tissue under examination, as a result of a combined tissue excitation with light and special chemical agents. The topical or systematic administration of these agents result in an evanescent contrast enhancement between normal and abnormal areas of tissue. The apparatus enables the capturing of temporally successive imaging in one or more spectral bands simultaneously. Based on the measured data, the characteristic curves that express the agent-tissue interaction kinetics, as well as numerical parameters derived from these data, are determined in any spatial point of the examined area. Mapping and characterization of the lesion, are based on these parameters.

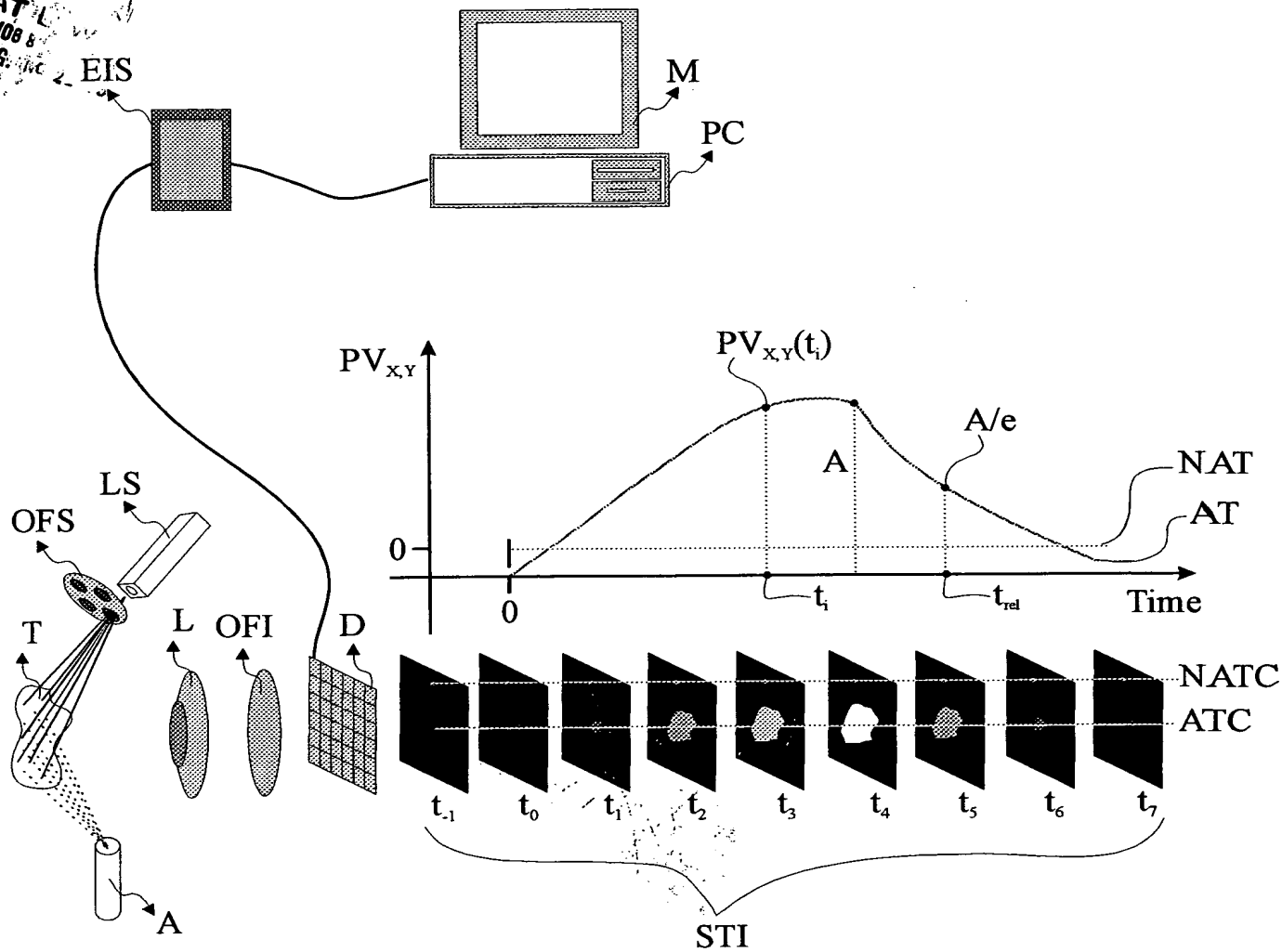
REFERENCES

- [1] R.R. Richards-Kortum, M.F. Mitchell, N. Ramanujam, A. Mahadevan, S. Thomsen, "In vivo fluorescence spectroscopy: Potential for non-invasive, automated diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and use as a surrogate endpoint biomarker", *J. Cell. Biochem.* (Suppl.) vol. 19, pp. 111-119, 1994
- [2] R.R. Alfano, D.B. Tata, J. Cordero, P. Tomashefsky, F.W. Longo, M.A. Alfano, "Laser induced fluorescence spectroscopy from native cancerous and normal tissue", *IEEE JQE*, Vol. 20 pp. 1507-1511, 1984
- [3] R. Richards-Kortum, R.P. Rava, M. Fitzmaurice, M. Sivak, M.S. Feld "Spectroscopic diagnosis of colonic dysplasia", *Photochem. Photobiol.*, vol. 53, pp. 777-786, 1991
- [4] K.T. Schomacker, J.K. Frisoli, C.C. Compton, T.J. Flotte, J.M. Richter, N.S. Nishioka, T.F. Deutsch, "Ultraviolet laser-induced fluorescence of colonic tissue: "Basic biology and diagnostic potential", *Lasers Surg. Med.*, vol 12, pp.63-78, 1992
- [5] W.S. Glassman, C.H. Liu, G.C. Tang, S. Lubicz, R.R. Alfano, "Ultraviolet excited fluorescence spectra from non-malignant and malignant tissues of the gynecological tract", *Lasers Life Sci*, vol. 5, pp. 49-58, 1992
- [6] N. Ramanujam, M.F. Mitchell, A. Mahadevan-Jansen, S. Thomsen, G. Staerckel, A. Malpica, T. Wright, N. Atkison and R.R. Richards-Kortum, "Cervical precancer detection using a multivariate statistical algorithm based on laser-induced fluorescence spectra at multiple excitation wavelengths", *Photochem. and Photobiol.*, vol. 64(4), pp. 720-735, 1996.
- [7] Bigio and J. Mourant, 1997: "Ultraviolet and visible spectroscopies for tissue diagnostics: fluorescence spectroscopy and elastic-scattering spectroscopy" *Phys Med. Biol.* 42 pp. 803- 814.
- [8] R. M. Shier, "The colposcopy unit", *Obstetrics & Gynecology Clinics of N. America*, 40 (1), (1993), pp 55-58.

NIKIFOR  
AT LAW  
R. 106 82 AT  
35 REG. NO 22-53

- [9] A. Mashberg, P. Barsa, Screening for oral and oropharyngeal squamous carcinoma, CA Cancer J. Clin., Vol 34(5), 1984, pp. 262-268
- [10] S. Anderson Engels, C. Klinteberg, K. Svanberg, S. Svanberg, In vivo fluorecence imaging for tissue diagnostics, Phys Med. Biol. 42 (1997) 815-24
- [11] M. Anderson, J. Jordan, A. Morse, F. Sharp, *Integrated Colposcopy*, London: Chapman & Hall Medical, 1996.
- [12] C. Balas, A. Dimoka, E. Orfanoudaki, E. koumandakis, "In vivo assessment of acetic acid-cervical tissue interaction using quantitative imaging of back-scattered light: Its potential use for the in vivo cervical cancer detection grading and mapping", SPIE-Optical Biopsies and Microscopic Techniques, Vol. 3568 pp. 31-37, (1998)
- [13] C. Balas, M. Stefanidou, T Giannouli, S. Georgiou, E. Helidonis, and A. Tosca, " A modular diffuse reflection and fluorescence emission imaging colorimeter for the in vivo study of parameters related with the phototoxic effect in PDT", in Photochemotherapy: Photodynamic Therapy and other Modalities III, Kristian Berg, Benjamin Ehrenberg, Zvi Malik, Johan Moan, Editors, Proc. SPIE 3191, pp 50-57, 1997

S. NIKIF  
EY AT L  
5 STR. 108 B  
8865 REG. INC



KI

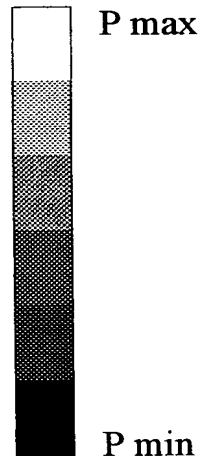
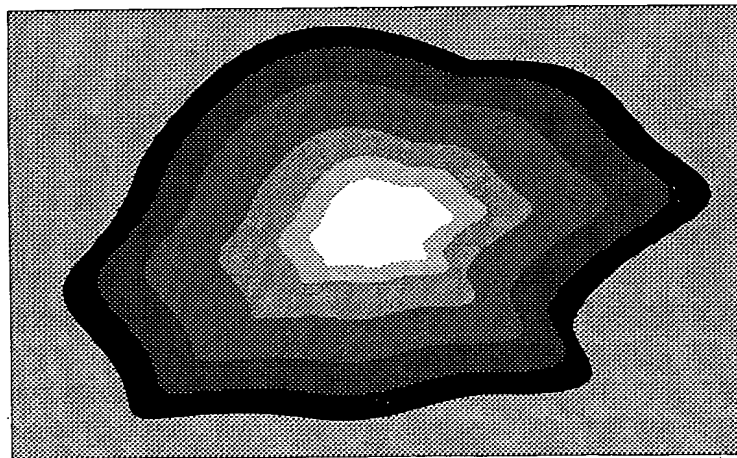


Figure 1

RIKIFOR  
Y AT LAW  
STR. 100 82  
665 REG. NO 22553

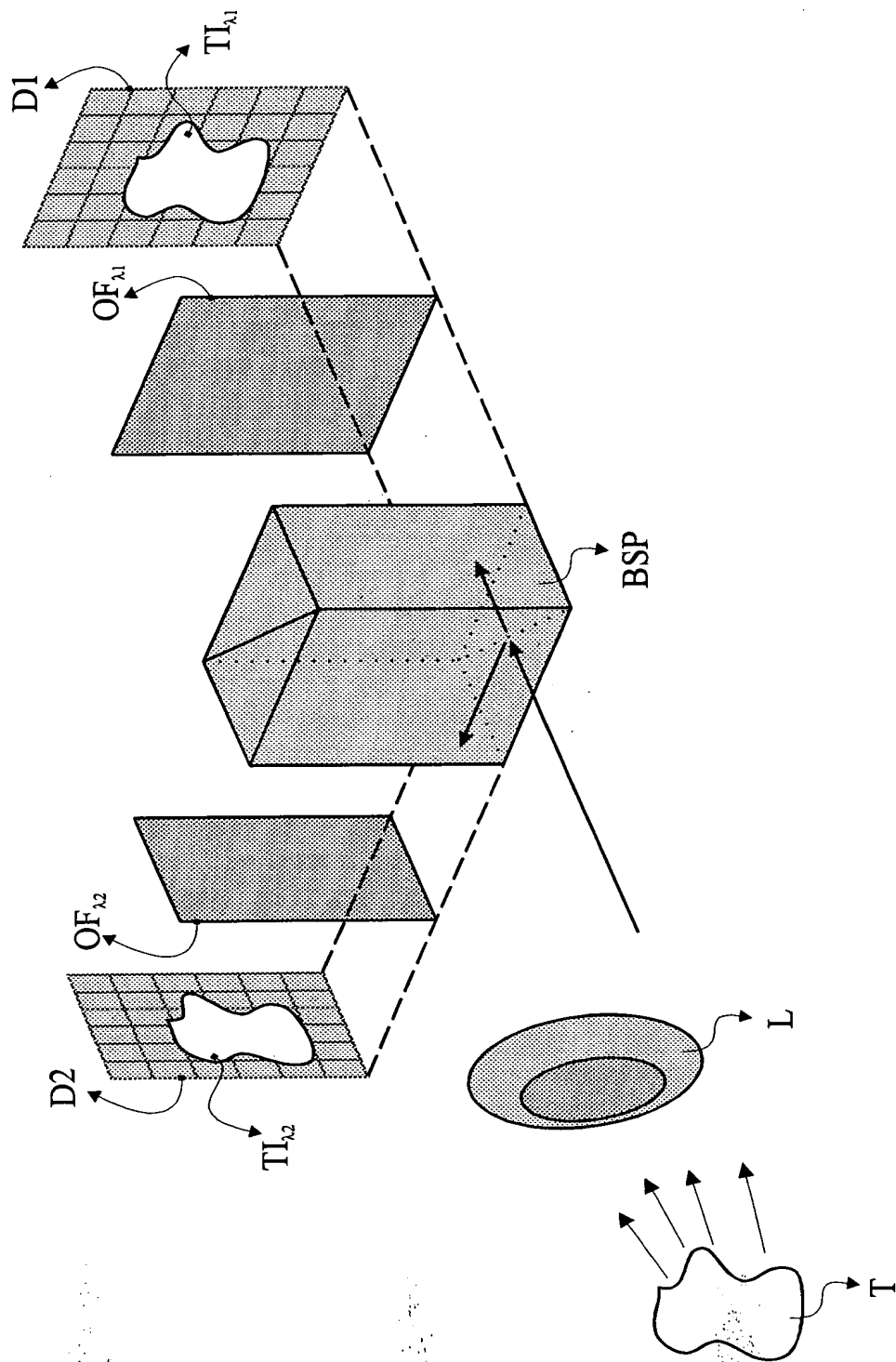


Figure 2



NIKIFOR  
AT L W  
TL 108 82  
65 REG. N

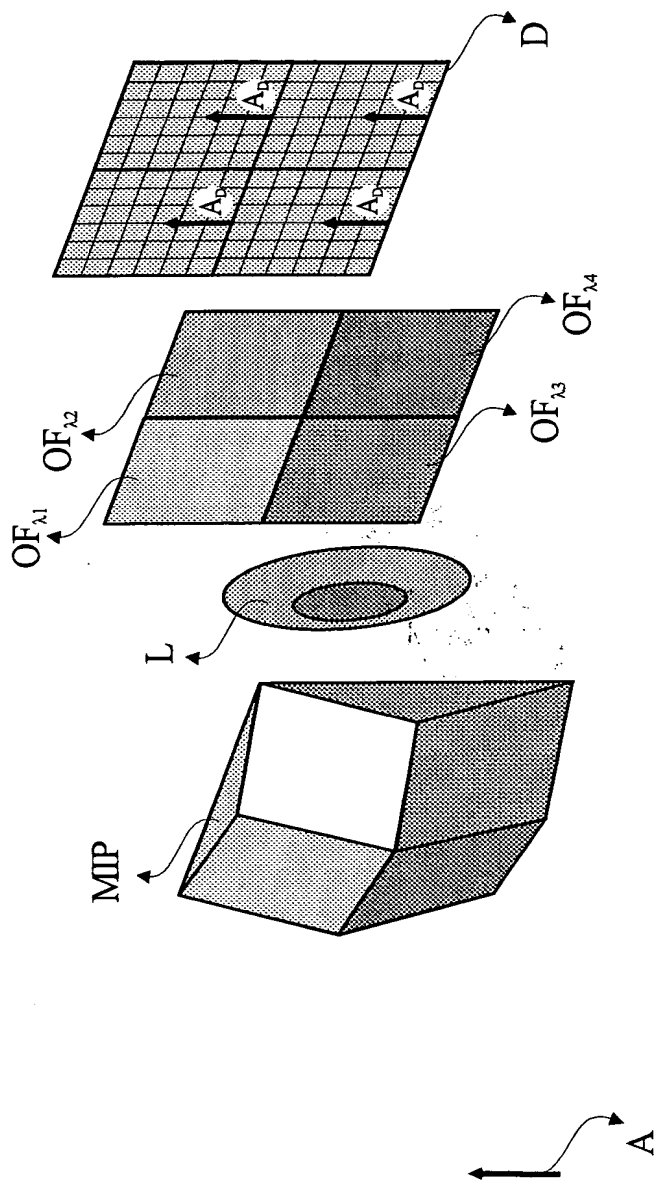


Figure 3

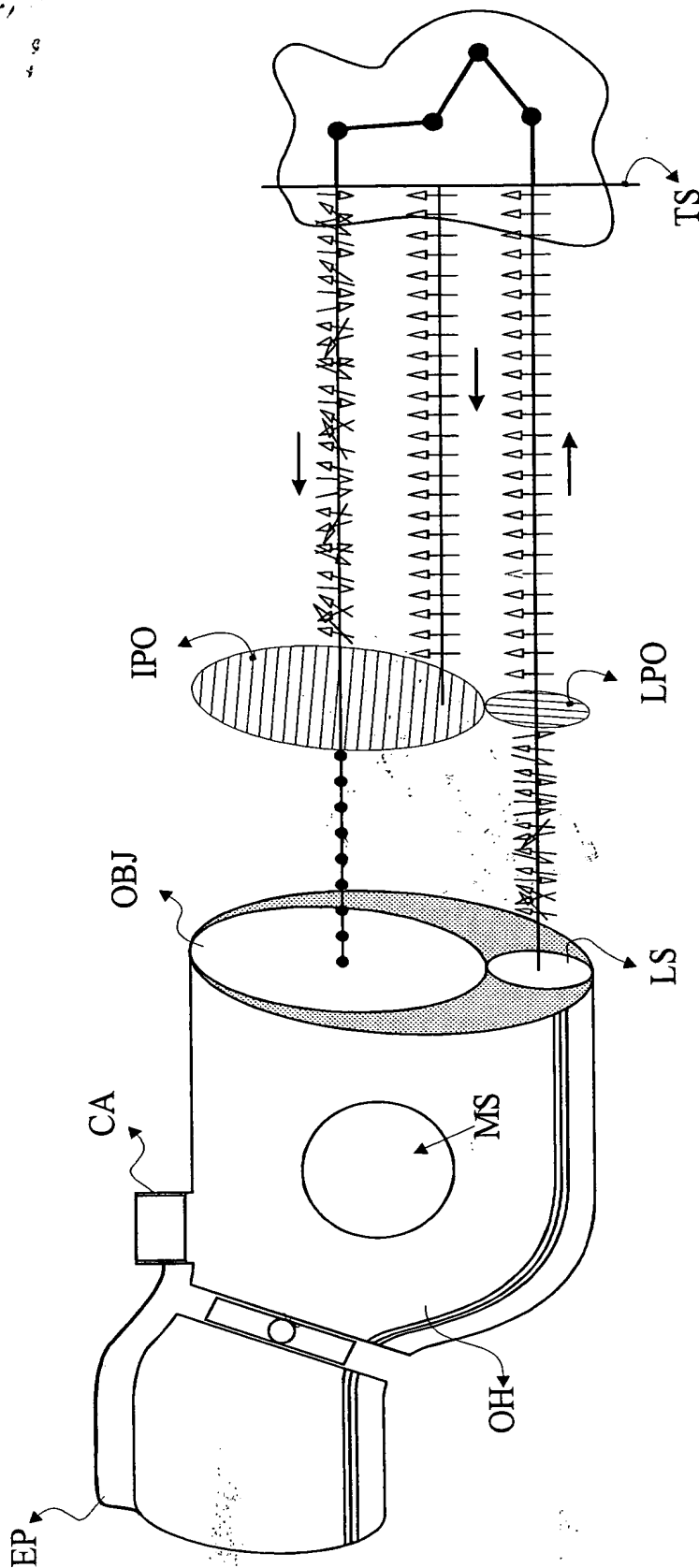


Figure 4

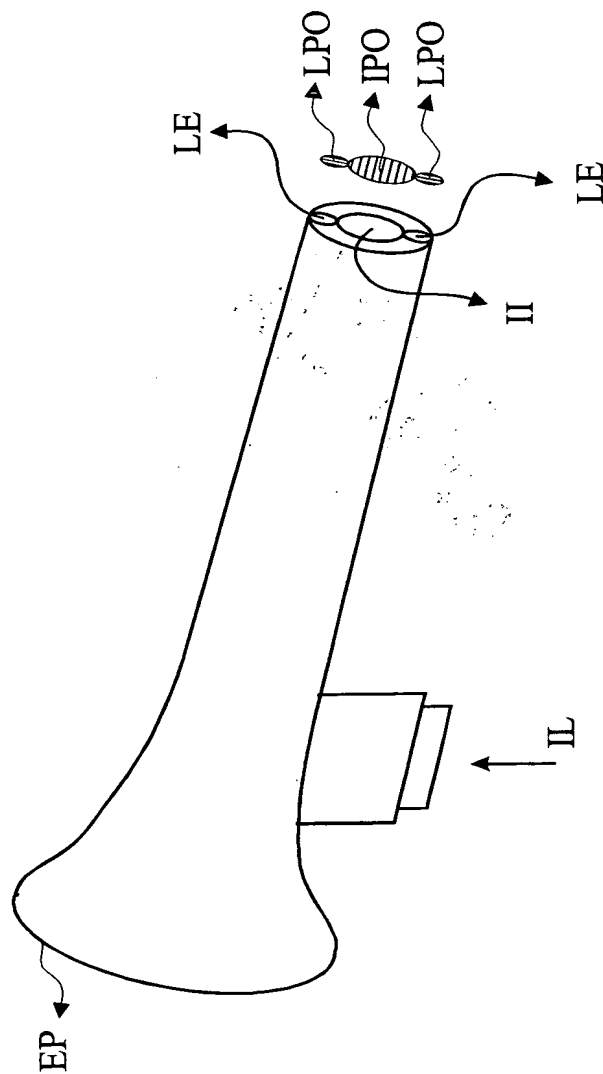


Figure 5

NIKIF  
AT L  
STR. 10 82 AT  
8665 REF

20000100102

200001-300102



Figure 6

2000100102

S. NIK.FC  
NEY AT I  
IAS STB. 10  
838665 i

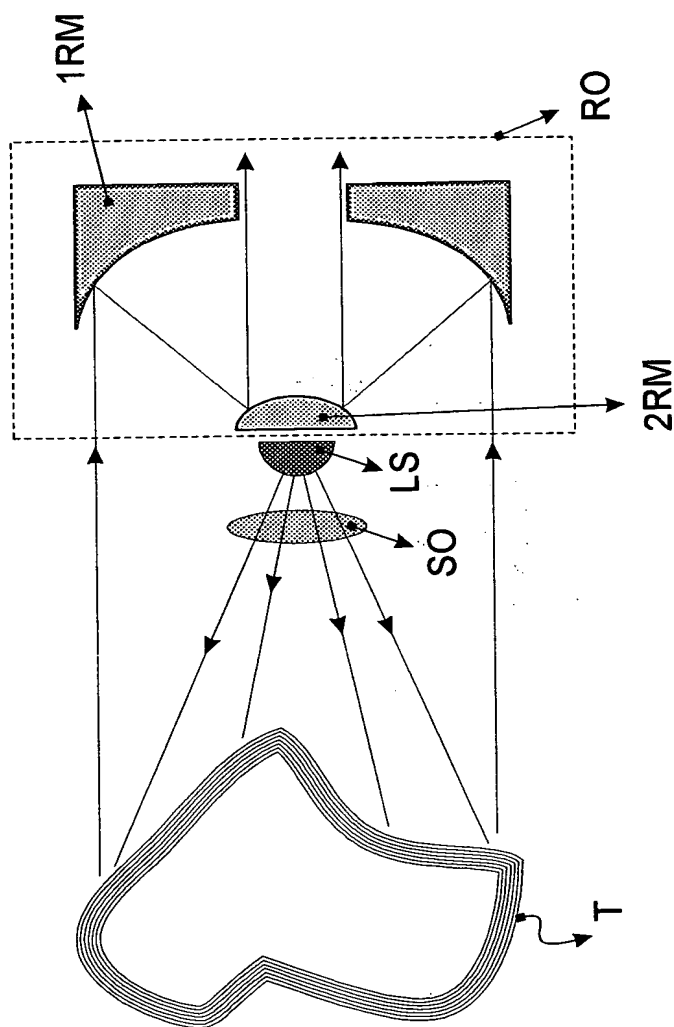


Figure 7